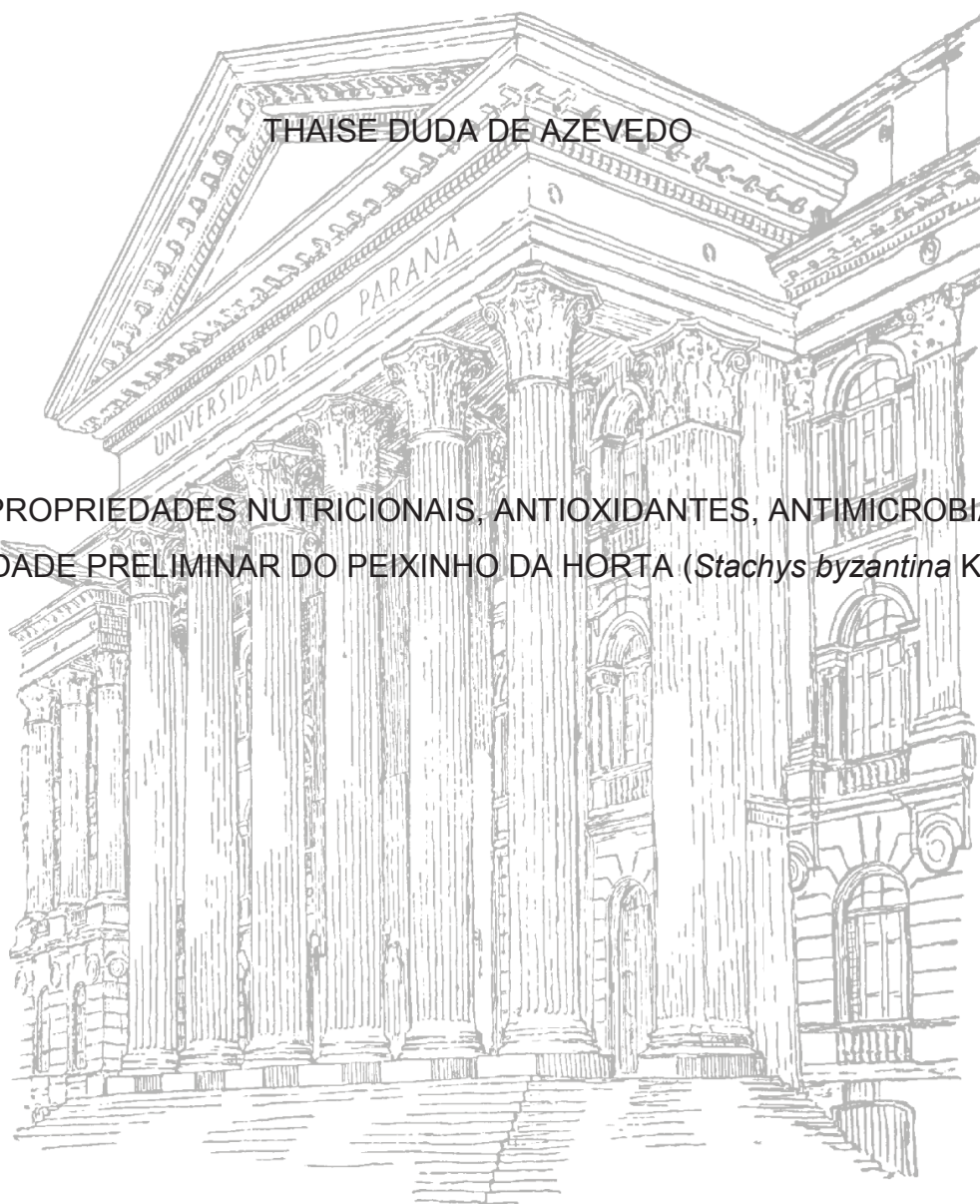


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

THAISE DUDA DE AZEVEDO

PROPRIEDADES NUTRICIONAIS, ANTIOXIDANTES, ANTIMICROBIANAS E
TOXICIDADE PRELIMINAR DO PEIXINHO DA HORTA (*Stachys byzantina* K. Koch)



CURITIBA

2018

THAISE DUDA DE AZEVEDO

PROPRIEDADES NUTRICIONAIS, ANTIOXIDANTES, ANTIMICROBIANAS
E TOXICIDADE PRELIMINAR DO PEIXINHO DA HORTA (*Stachys byzantina* K.
Koch)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição, área de concentração em Segurança Alimentar e Nutricional, Departamento de Nutrição, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Alimentação e Nutrição.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cláudia Carneiro Hecke Krüger

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Christiane de Queiroz Pereira Pinto

CURITIBA

2018

Azevedo, Thaise Duda de

Propriedades nutricionais, antioxidantes, antimicrobianas e toxicidade preliminar do peixinho da horta (*Stachys byzantina* K. Koch) [recurso eletrônico] / Thaise Duda de Azevedo – Curitiba, 2018.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná, 2018.

Orientadora: Professora Dra. Cláudia Carneiro Hecke Krüger
Coorientadora: Professora Dra. Christiane de Queiroz Pereira Pinto

1. Plantas comestíveis. 2. Proteínas vegetais. 3. Lamiaceae. 4. Ação antioxidante. 5. Ação antimicrobiana. I. Krüger, Cláudia Carneiro Hecke. II. Pinto, Christiane de Queiroz Pereira. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 612.3



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ALIMENTAÇÃO E
NUTRIÇÃO

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **THAISE DUDA DE AZEVEDO** intitulada: **PROPRIEDADES NUTRICIONAIS, ANTIOXIDANTES, ANTIMICROBIANAS E TOXICIDADE PRELIMINAR DO PEIXINHO DA HORTA (*Stachys byzantina* K. Koch)**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 31 de Julho de 2018.

CLAUDIA CARNEIRO HECKE KRUGER
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

EVANDRO LEITE DE SOUZA
Avaliador Externo (UFPB/J.P.)

JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS
Avaliador Externo (UFPR)

Dedico esse trabalho a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para sua realização. Também fico feliz em dedicar os frutos desse estudo ao fortalecimento de iniciativas com vistas à promoção de interrelações ecológicas, econômicas ou sociais (incluindo políticas) que conversem entre si de forma mais positiva.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida a mim, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento fornecido por meio da chamada pública MCTI/CNPQ/MEC/Capes - Ação transversal n. 06/2011/ Casadinho/PROCAD, ao Centro de Assessoria de Publicação Acadêmica (CAPA) pelo auxílio na escrita dos artigos, à Prof^a. Dr^a. Cláudia Krüger e à Prof^a. Dr^a. Christiane Queiroz pela orientação, aos técnicos de laboratório da Universidade Federal do Paraná - Jair José de Lima, Lindamir Tullio, Luiz Covizzi e Maria da Graça Toledo - pelo apoio dado durante as análises, aos produtores que doaram amostras dos seus cultivos, à Professora Dr^a. Sila Mary, à Pós-Dr^a. Marlene Bamppi, ao Pós-Dr. Marco André Cardoso e ao Ms. Francis José Merino pelo auxílio dado para a realização das análises laboratoriais, às colegas da turma 2016.2 do Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição da Universidade Federal do Paraná pela contribuição dada à definição do delineamento do estudo e às apresentações, à Juliana Guedes pela amizade e apoio. E acima de tudo, por estarem sempre comigo, mesmo distantes, agradeço imensamente à minha mãe (Maria de Lourdes Duda), pai (José Francisco de Azevedo) e irmã (Tamires Duda de Azevedo), que são as pessoas mais importantes na minha vida.

“O que vale na vida
não é o ponto de partida
e sim a caminhada.
Caminhando e semeando,
no fim terás o que colher”.

Cora Coralina

RESUMO

Stachys byzantina K. Koch, popularmente conhecida como “peixinho da horta”, pertence à família Lamiaceae. Constitui uma planta alimentícia não convencional (PANC) de crescente aplicação na alimentação humana. Contudo, pouco é conhecido sobre o seu valor nutricional ou seu potencial de utilização no desenvolvimento de alimentos. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a composição físico-química das folhas, avaliar o potencial antioxidante do extrato cetohidrometanólico das folhas, sua atividade antimicrobiana contra bactérias contaminantes na indústria de alimentos, e sua toxicidade preliminar. Para tanto, foram coletadas folhas frescas em três localidades da região metropolitana de Curitiba – PR. Foram determinados os valores de umidade, pH, resíduo mineral fixo, teor de sólidos solúveis, acidez titulável, proteínas, aminoácidos, lipídeos, carboidratos, fibras, valor energético, vitamina C, potencial de redução dos radicais DPPH e ABTS, formação do complexo fosfomolibdênio, conteúdo fenólico total, atividade antimicrobiana e avaliação da toxicidade preliminar frente à *Artemia salina*. Os resultados obtidos indicam que as folhas se destacam pelos teores de fibras ($48,8 \pm 2,1$ %), proteínas ($19,2 \pm 0,7$ %), carboidratos ($10,13 \pm 0,75$ %), potássio ($1900,5 \pm 7,4$ mg/100 g) e ferro ($0,48 \pm 0,06$ mg/100 g). As concentrações de treonina, triptofano, fenilalanina, tirosina e aminoácidos sulfurados atendem às necessidades nutricionais de crianças e adultos estabelecidas pela FAO. O extrato cetohidrometanólico apresentou teor de fenólicos totais de 438,92 µg de equivalente de ácido gálico/g de peso seco. Foi encontrado expressivo efeito antioxidante em relação aos ensaios de DPPH (EC₅₀ 30,50 µg/mL) e ABTS (214,05 µM equivalente de Trolox/g peso seco). O potencial antioxidante total foi semelhante ao da rutina. O conteúdo de vitamina C foi de 7,08 mg/100 g nas folhas frescas. O extrato cetohidrometanólico apresentou efeito inibitório sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typhi*. Foi encontrado LC₅₀ maior que 1000 ppm para o ensaio com a *Artemia salina*, indicando produto não tóxico. Em conclusão, as folhas de *S. byzantina* podem contribuir consideravelmente para a nutrição dos consumidores, favorecer a diversificação alimentar e a preservação e valorização da sociobiodiversidade brasileira. Assim como, o extrato cetohidrometanólico constitui um aditivo natural promissor para ampliação da vida de prateleira de produtos alimentícios, atuando como antioxidante e antimicrobiano.

Palavras-chaves: Qualidade nutricional. Plantas alimentícias não convencionais. PANC. Proteínas vegetais. Lamiaceae. Potencial antioxidante. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Stachys byzantine K. Koch, commonly known as “lamb’s ear”, is an unconventional food plant that belongs to the Lamiaceae family. The application of *S. byzantina* leaves for alimentary purpose has grown. However, little is known about their nutritional value or its application on food product development. Therefore, the objective of this study is to conduct the proximate analysis on the leaves, and evaluate the leaves’ extract antioxidant potential, antimicrobial activity, and preliminary toxicity. For this, fresh leaves were collected in three locations of the metropolitan region of Curitiba - PR. The values of moisture, pH, ash, soluble solids content, proteins, amino acids, lipids, carbohydrates, fibers, energy value, vitamin C, DPPH and ABTS radicals scavenging activity, phosphomolybdenum complex formation, total phenolic, antimicrobial activity and evaluation of preliminary toxicity with *Artemia salina*. The leaves stand out for the fiber (48.8 ± 2.1 %), protein (19.2 ± 0.7 %), carbohydrate (10.13 ± 0.75 %), potassium (1900.5 ± 7.4 mg/100 g) and iron (0.48 ± 0.06 mg/100 g) contents. The concentrations of threonine, tryptophan, phenylalanine, tyrosine, and sulfur amino acids met FAO requirements and suited the needs of children and adults. The extract showed total phenolic content of 438.92 μ g galic acid equivalent/g dry weight. It was found expressive antioxidant effect with regard to DPPH (EC₅₀ 30.50 μ g/mL) and ABTS (214.05 μ M Trolox equivalent/g dry weight) assays. Total antioxidant potential was similar to rutin. Vitamin C concentration was 7.08 mg/100 g in the fresh leaves. Antimicrobial activity was positive against growth of *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumonia* and *Salmonella typhi*. It was found LC₅₀ greater than 1000 ppm for *Artemia salina* assay, indicating a non-toxic product. In conclusion, the leaves can contribute considerably for consumers’ nutrition, promote food diversification and support the preservation and valorization of the Brazilian sociobiodiversity. Moreover, the extract constitutes a promising natural additive component for extending shelf life of food products, acting as antioxidant and antimicrobial agent.

Key-words: Nutritional Quality. Food Plant. Plant Proteins. Lamiaceae. Antioxidant potential. Antimicrobial activity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	–	CANTEIRO DE CULTIVO DA <i>Stachys byzantina</i> K. Koch NO CENTRO PARANAENSE DE REFERÊNCIA EM AGROECOLOGIA (CPRA)	28
----------	---	---	----

LISTA DE GRÁFICOS

- FIGURA 1 – COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS (AA) DAS PROTEÍNAS
(GRÁFICO) DAS FOLHAS DE *S. BYZANTINA* (G/100 G PROTEÍNA)
EM COMPARAÇÃO COM O PADRÃO DE AMINOÁCIDOS
SUGERIDO PELA OMS (2007) PARA OS REQUERIMENTOS
DIÁRIOS DE CRIANÇAS (1-2 ANOS) 44
- FIGURA 2 – COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS (AA) DAS PROTEÍNAS
(GRÁFICO) DAS FOLHAS DE *S. BYZANTINA* (G/100 G PROTEÍNA)
EM COMPARAÇÃO COM O PADRÃO DE AMINOÁCIDOS
SUGERIDO PELA OMS (2007) PARA OS REQUERIMENTOS
DIÁRIOS DE ADULTOS 45

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	–	LISTA DE PANCS FOLHOSAS TRADICIONALMENTE CONSUMIDAS NO BRASIL	26
----------	---	---	----

Capítulo 2

TABELA 1	–	CONCENTRAÇÃO DE ELETRÓLITOS NOS FLUIDOS SALIVAR, GÁSTRICO E INTESTINAL	37
----------	---	--	----

TABELA 2	–	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TEOR ENERGÉTICO TOTAL DAS FOLHAS DE <i>S. BYZANTINA</i> FRESCAS E LIOFILIZADAS ...	38
----------	---	--	----

TABELA 3	–	COMPOSIÇÃO DE MINERAIS NAS FOLHAS DE <i>S. BYZANTINA</i> FRESCAS E LIOFILIZADAS	41
----------	---	---	----

TABELA 4	–	COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS NAS FOLHAS DE <i>S. BYZANTINA</i> FRESCAS E LIOFILIZADAS	42
----------	---	--	----

TABELA 5	–	CONTAGEM DE AMINOÁCIDOS (CAA) E EAID PARA CADA AMINOÁCIDO DAS PROTEÍNAS DAS FOLHAS DE <i>S. BYZANTINA</i> COM RELAÇÃO AOS REQUERIMENTOS DE CRIANÇAS DE 1-2 ANOS (CR) E ADULTOS (AD)	48
----------	---	---	----

Capítulo 3

TABELA 1	–	FENÓLICOS TOTAIS, POTENCIAL ANTIOXIDANTE E TEOR DE VITAMINA C NO EXTRATO DAS FOLHAS DE <i>S. BYZANTINA</i> ...	66
----------	---	--	----

TABELA 2	–	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DO EXTRATO DAS FOLHAS DE <i>S. BYZANTINA</i>	68
----------	---	---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVO	16
1.1.1	Objetivo geral	16
1.1.2	Objetivos específicos	16
2	CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	A PRESENÇA DE VEGETAIS NA DIETA DA POPULAÇÃO BRASILEIRA	17
2.2	SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL	20
2.3	SOBERANIA ALIMENTAR, SOCIOBIODIVERSIDADE E PANCS	22
2.4	PANCS E O PEIXINHO DA HORTA (<i>Stachys byzantina</i> K. Koch)	26
3	CAPÍTULO 2: ARTIGO 1	30
4	CAPÍTULO 3: ARTIGO 2	56
5	CONCLUSÃO	77
	REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO

A intensificação agrícola com a busca por alto rendimento tem levado ao predomínio de monoculturas e do comércio em escala globalizada em detrimento de policulturas e do comércio local, o que parece aumentar a segurança alimentar localmente, mas reduz a resiliência do sistema alimentar global (SEEKELL et al., 2017). Apesar de gerar maior desempenho no campo, esse cenário acarreta malefícios na produção de alimentos em larga e pequena escala (KAHANE et al. 2013).

Em larga escala, por exemplo, a intensificação da agricultura por meio de monoculturas de variedades de alto rendimento tem sido eficiente em gerar aumento na produção, porém esse efeito foi associado à utilização elevada de insumos químicos e mecânicos que causam impactos ambientais negativos no solo, na água, no ar e na biodiversidade (LANDIS, 2017).

Enquanto na pequena escala, núcleos familiares que antes produziam alimentos para o autoconsumo e vendiam o excedente, agora tem intensificado o ritmo de trabalho, dando preferência ao cultivo de alimentos com maior apelo mercadológico, convencionais, especializando-se em poucas culturas e, conseqüentemente, desinteressando-se pelo cultivo de plantas com menor valor comercial, como as plantas alimentícias não convencionais (PANCs) (GRISAI; SCHNEIDER, 2008).

A menor variedade de espécies cultivadas para o autoconsumo aliada à incorporação do consumo de alimentos industrializados, ricos em açúcar, sódio e gorduras, tem levado ao empobrecimento do valor nutricional da dieta dessas populações o que pode induzir a instauração de uma fome oculta, caracterizada pela ingestão calórica adequada ou em excesso, porém deficiente em minerais e/ou vitaminas (GRISAI; SCHNEIDER, 2008).

Por outro lado, teorias que questionam a eficácia do monocultivo sugerem que os ecossistemas mais diversos sustentam maior produtividade e estabilidade, uma vez que a associação de culturas compatíveis é benéfica para a produção e para o meio ambiente (KAHANE et al. 2013). Nessas culturas inclui-se as PANCs, que são espécies pouco exploradas comercialmente, porém bem adaptadas ao bioma local, demandando pouco ou nenhum tratamento químico para seu crescimento.

Essas podem ser utilizadas para ocupar áreas antes consideradas improdutivas, ou seja, aquelas nas quais as plantas de maior interesse comercial, muitas vezes exóticas, não se adaptaram. Além disso, ao optar por espécies mais resistentes, a produção é menos afetada por excesso de chuvas ou por ondas de calor ou frio. Ainda, o cultivo dessas espécies contribui para a preservação e valorização da sociobiodiversidade brasileira, considerada uma das maiores do mundo (KINUPP; LORENZI, 2014).

Contudo, esses plantios geralmente não atendem aos padrões modernos de uniformidade e são pouco conhecidos pela população em geral. Com isso, tendem a ser menos competitivos no mercado em comparação com cultivares comerciais (GRISAI; SCHNEIDER, 2008). Em contrapartida, existem casos de sucesso. O amaranto, por exemplo, era pouco conhecido até 1975, quando ganhou destaque mundial após pesquisas revelarem o grande potencial nutricional da espécie, principalmente no que diz respeito ao teor e qualidade das proteínas presentes no grão (CASELATO-SOUSA; AMAYA-FARFÁN, 2012).

Uma outra PANC, o peixinho da horta, tem ganhado atenção como planta comestível por parte do público consumidor preocupado em aderir a uma alimentação saudável. O aumento do consumo dessa planta parece estar relacionado à busca de parte dos consumidores por alimentos de origem vegetal motivada por questões de saúde e também ambientais, uma vez que a cadeia produtiva de alimentos de origem vegetal produz menor emissão de CO₂ quando comparada a cadeia produtiva de produtos de origem animal (VUUREN et al., 2017). O aproveitamento dessa espécie também tem crescido pelos pequenos agricultores que a cultivam para consumo próprio, principalmente relacionado ao uso medicinal com base na medicina tradicional (KINUPP; LORENZI, 2014). O peixinho da horta apresenta teor proteico expressivo; maior do que aquele encontrado em plantas consideradas fontes de proteína, como a ora-pro-nobis (VIANA, 2015). Tem se destacado ainda pelo seu potencial antioxidante elevado (HAJIMEHDIPOOR et al., 2014; ARBOS et al., 2010) e significativa atividade antimicrobiana (SAEEDI et al., 2008).

Diante disso, o presente estudo objetiva ampliar o conhecimento a respeito das folhas de *S. byzantina* por meio da caracterização nutricional com avaliação da qualidade proteica, avaliação do potencial antioxidante, análise de compostos fenólicos e avaliação da atividade antimicrobiana frente a bactérias contaminantes. Com esse trabalho, espera-se incentivar o melhor aproveitamento desse alimento por

parte da população local por meio do consumo e comercialização do peixinho da horta, com maior valor agregado, contribuindo assim para melhor nutrição dessas pessoas e incremento da sua renda. Além disso, do ponto de vista acadêmico e tecnológico, espera-se enriquecer o banco de dados referente ao potencial nutricional dessa planta, que pode ser utilizado para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios.

O presente estudo apresenta-se dividido na forma de capítulos, conforme descrito abaixo:

- Capítulo 1: Revisão de literatura
- Capítulo 2: Artigo 1
 - Caracterização nutricional e avaliação da qualidade proteica das folhas de *Stachys byzantina* K. Koch, uma planta alimentícia não convencional
- Capítulo 3: Artigo 2
 - Potencial antioxidante, atividade antimicrobiana e avaliação da toxicidade preliminar do extrato das folhas de *Stachys byzantina* K. Koch
- Considerações finais
- Referências

1.1 OBJETIVO

1.1.1 Objetivo Geral

Realizar a caracterização nutricional, fitoquímica, toxicológica preliminar e antimicrobiana das folhas do peixinho da horta (*Stachys byzantina* K. Koch) produzidas no estado do Paraná, Brasil.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a composição nutricional das folhas;
- Avaliar a digestibilidade *in vitro* das proteínas das folhas;
- Determinar a qualidade nutricional das proteínas das folhas;
- Identificar compostos nutricionais bioativos do extrato cetohidrometanólico;
- Avaliar o potencial antioxidante do extrato cetohidrometanólico;
- Verificar indicativo de toxicidade do extrato cetohidrometanólico;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato cetohidrometanólico.

CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A PRESENÇA DE VEGETAIS NA DIETA DA POPULAÇÃO BRASILEIRA

O alimento é um componente essencial à manutenção da vida humana. Contudo, o hábito e comportamento alimentar são sistemas dinâmicos que compreendem dimensões socioculturais, subjetivas e individuais. Nesse sentido, cada alimento é percebido de forma diferente a depender do contexto ou comunidade no qual está inserido (WOOD, 2017).

Josué de Castro, em 1946, discutiu o hábito alimentar no Brasil com base no que definiu como *mosaico alimentar brasileiro*. O autor concebe a diferenciação regional dos tipos de dietas existentes no país, oriundas das variadas categorias de recursos naturais (alimentos) e das distintas etnias que constituíram a nação brasileira. Apesar das diferenças, a provisão de alimentos vinha predominantemente da agricultura familiar de subsistência, ou seja, aquela na qual o cultivo agrícola se dá com o objetivo de provisão de alimentos que serão aproveitados para o consumo por parte do agricultor, da sua família e da comunidade na qual está inserido. Nesse cenário, a escolha do agricultor com relação a quais espécies e variedades serão cultivadas influencia substancialmente o hábito alimentar daqueles que consumirão o alimento ali produzido (CASTRO, 1984). Além disso, a diversificação de culturas, as altas interações entre as atividades agrícolas e o manejo agroecológico, que são característicos da agricultura agroecológica de base familiar, tornam essa cadeia produtiva de alimentos pouco dependente de fontes não renováveis de energia e minerais, e, assim, mais sustentável (CAMELO; BLUM, 2018).

Durante o final do século XX, o Brasil experienciou um acelerado processo de urbanização. Em 1960, cerca de 55 % da população brasileira residia em regiões rurais e a agricultura de subsistência era uma das principais atividades econômicas na época. À medida em que se instalaram e expandiram núcleos industriais no Brasil, em resposta a incentivos governamentais para a modernização agrícola e industrial do país, observou-se um fluxo intenso de pessoas movendo-se do campo para a cidade, e, especialmente, em direção aos estados do Rio de Janeiro e São Paulo. Em 1980, o volume populacional urbano cresceu, em média, 51 %. Sendo que atualmente mais de 80 % da população brasileira vive em área urbana. A redistribuição

populacional contribuiu para mudanças significativas nas relações sociais, econômicas e organizacionais estabelecidas no território brasileiro (IBGE, 2017).

Transformações importantes foram (1) o crescente distanciamento entre a produção agrícola e o consumidor e (2) o maior desmatamento para o estabelecimento de agricultura extensiva e pecuária. Além disso, urbanização, industrialização e globalização influenciaram consideravelmente o crescimento do consumo de produtos alimentícios que eram novos para a maior parte da população. Nesse sentido, sobressaíram os alimentos industrializados (usualmente muito calóricos, ricos em açúcar, sódio e gorduras saturadas) divulgados por meio da publicidade, em detrimento de preparações alimentícias tradicionais e alimentos *in natura*, especialmente frutas e verduras. Com relação ao aspecto nutricional, o novo hábito alimentar contribuiu para o aumento da prevalência e incidência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (SILVA et al., 2018).

Nesse contexto, uma condição clínica denominada como "síndrome metabólica" tornou-se uma preocupação atual e relevante para a saúde pública (RAMIRES et al., 2018). Essa síndrome é um fenômeno multidimensional caracterizado pela presença concomitante de fatores de risco, como hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes, resistência à insulina e deposição de gordura central (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO et al., 2005).

No Brasil, a quantidade de pessoas maiores de 18 anos diagnosticadas com hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes e câncer foram 31,3, 18,4, 9,1 e 2,7 milhões, respectivamente. Essas DCNT responderam por grande parte das mortes e comprometimento da qualidade de vida na população, além de causar grande demanda nas finanças dos serviços de saúde (BRASIL, 2017).

Evidências científicas baseadas em estudos de coorte sugerem que a ingestão de 500-600 gramas de vegetais por dia diminui o risco de desenvolvimento de doença coronariana, acidente vascular cerebral, doença cardiovascular e câncer em cerca de 30 %, 28 %, 28 % e 12 %, respectivamente. Além disso, o aumento na ingestão de vegetais folhosos foi importante na redução da incidência de DCNT quando a ingestão habitual anterior era baixa (AUNE et al., 2017).

Apesar do efeito protetor da saúde desses elementos, aproximadamente 62,7 % da população brasileira consome menos de 400 gramas de vegetais por dia (IBGE, 2011). Não há uma recomendação oficial sobre a proporção de vegetais folhosos que seria indicada para consumo pela população brasileira. No entanto, apenas 16 % dos

indivíduos menciona a ingestão de salada de vegetais crus. Ainda, a salada consiste basicamente de alface, rúcula e repolho. Nenhuma dessas espécies é nativa da flora brasileira. A ingestão de outros vegetais folhosos foi relatada por apenas 2,5 % da população (IBGE, 2011).

Considerando a subutilização do uso de vegetais verdes folhosos na dieta da população, integrar o conhecimento sobre as PANCs com a promoção da soberania alimentar e segurança alimentar e nutricional, com ênfase na utilização desses vegetais no desenvolvimento de produtos alimentícios inovadores é de grande importância e pode contribuir com o aumento de produtos alimentícios saudáveis disponíveis no mercado, o incremento da renda dos pequenos agricultores, a melhoria da saúde da população e a preservação da sociobiodiversidade em áreas agrícolas.

2.2 SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL

Em 1974, a Conferência Mundial de Alimentação identificou que a garantia da segurança alimentar, que consistia na necessidade de assegurar o acesso universal dos alimentos, em quantidade e qualidade suficientes para garantir uma vida saudável e de qualidade, teria que passar por uma política de armazenamento estratégico e de oferta de alimentos associada ao aumento na produção de alimentos. A ideia hegemônica na época era de que a produção de gêneros alimentícios seria insuficiente para alimentar a população mundial e foi incentivado o desenvolvimento de novas tecnologias agrícolas capazes de aumentar a produção dando início a um movimento denominado mais tarde de Revolução Verde. Nesse período, laboratórios de biotecnologia e pesquisa desenvolveram sementes de alto rendimento, diversos tipos de fertilizantes e pesticidas, novas variedades genéticas e sistemas de mecanização do campo. A zona rural, antes ocupada por grupos familiares de camponeses passou a ser sede de latifúndios monopolizados por oligarquias agrícolas que estabeleceram no local monocultivos ou pastagens para gado de corte, e a mão de obra camponesa foi em grande parte substituída por maquinário (NAVOLAR; RIGON; PHILIPPI, 2010).

Essa série de eventos levou países como a Índia, palco das primeiras experiências, a apresentar um enorme aumento da produção de alimentos. Porém, acompanhada de redução da biodiversidade local, menor resistência a pragas, êxodo rural, contaminação do solo e dos alimentos com agrotóxicos e intoxicação devido ao contato de produtores e consumidores com esses agrotóxicos. Sem, contudo, haver diminuição da fome no país, uma vez que existiam alimentos em quantidade suficiente para alimentar a população, mas a parcela da população que apresentava baixa renda continuava em situação de insegurança alimentar, ou seja, com difícil acesso a esses alimentos. O que contribuiu para que o conceito de segurança alimentar passasse a considerar o acesso físico e econômico de todos e, de forma permanente, a quantidades suficientes de alimentos seguros, de qualidade, produzidos de forma equilibrada, culturalmente aceitável e também incorporando a ideia de acesso à informação. Tal visão foi consolidada pela Conferência Internacional de Nutrição (FAO, 1992), pela FAO e pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (NAVOLAR; RIGON; PHILIPPI, 2010).

Para Lang e Heasman (2004), apesar do debate teórico alusivo à problemática do abastecimento de alimentos ter avançado, o mercado alimentício é fortemente influenciado por pressões advindas de interesses de grandes corporações industriais oligárquicas que produzem e comercializam alimentos, contribuindo para o estabelecimento de um padrão de consumo alimentar predisponente ao crescimento da obesidade, diabetes, diferentes tipos de câncer e demais problemas associados à questão alimentar por parte da população.

Além disso, o sumário dos resultados da Avaliação Ecossistêmica do Milênio (AEM), considerada a mais ampla avaliação já realizada sobre o estado e a saúde dos ecossistemas do planeta, contando com a participação 1.360 pesquisadores de 95 países, mostra que, nos últimos 50 anos, a ação antrópica alterou os estruturados ecossistemas de maneira mais rápida e extensiva do que em qualquer outro intervalo de tempo equivalente na história da humanidade. Isso acarretou uma perda substancial e, em grande medida, irreversível na biodiversidade do planeta. Esta avaliação concluiu que 60 % (15 entre 24) dos ecossistemas avaliados encontram-se degradados ou então estão sendo utilizados de forma não sustentável (MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT, 2005).

2.3 SOBERANIA ALIMENTAR, SOCIOBIODIVERSIDADE E PANCs

A soberania alimentar se refere ao direito dos povos de decidir a respeito do seu próprio sistema alimentar, considerando aqueles que produzem, distribuem e consomem alimentos como principais sujeitos nesse sistema. Engloba ainda o direito do cidadão ao acesso a alimentos saudáveis, culturalmente adequados e produzidos de forma sustentável (BRASIL, 2013).

Um tema comum entre os tópicos soberania alimentar e PANCs é a preservação da sociobiodiversidade, a qual consiste no reflexo das dinâmicas e complexas relações entre as sociedades humanas, as plantas cultivadas e os ambientes em que convivem. Incluem-se nas dimensões socioculturais da soberania alimentar: a utilização de PANCs; a aproximação da produção e do consumo de alimentos; estabelecimento de pontes entre o urbano e o rural; a valorização da agrobiodiversidade, dos alimentos *in natura* e regionais; o respeito às tradições de todos os povos e comunidades tradicionais; e o resgate das identidades, memórias e culturas alimentares próprias da população (MMA, 2006).

A perda da biodiversidade relaciona-se diretamente com processos socioeconômicos de queda da qualidade de vida, como a fome e a miséria. O monocultivo e a destruição de áreas florestais para a criação de gado tem levado a diminuição do número de espécies alimentícias disponíveis para consumo, em especial, das PANCs (WITTMAN et al., 2017; MMA, 2006).

O crescimento e propagação de PANCs naturais da Mata Atlântica, na região de Minas Gerais (Brasil), por exemplo, tem diminuído em virtude do monocultivo do café e do uso de agrotóxicos nas terras agricultáveis da região (BARREIRA et al., 2015). Outro exemplo pode ser observado no cerrado, onde os cultivos de milho e soja contribuiu para a redução da vegetação natural em cerca de 39 % a 55 % da original (KLINK; MACHADO, 2005).

No Brasil, o governo tem desenvolvido ações políticas referentes a "diversificação alimentar" e "conservação da sociobiodiversidade". Nesse sentido, tem-se o "Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica" que objetiva integrar, articular e adequar políticas, programas e ações indutoras da transição agroecológica e da produção orgânica e de base agroecológica, contribuindo para o desenvolvimento sustentável e a qualidade de vida da população, por meio do uso sustentável dos recursos naturais e da oferta e consumo de alimentos saudáveis, e

promovendo a soberania e segurança alimentar e nutricional e o direito humano à alimentação adequada e saudável, por meio da oferta de produtos orgânicos e de base agroecológica isentos de contaminantes que ponham em risco a saúde (CIAPO, 2013).

Além desse Plano, outras ações têm sido dirigidas à temática, como a Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN), Programas de incentivo à agricultura familiar, tais como o Programa de Aquisição de Alimentos (PAA), o Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar (Pronaf) e a Política Nacional de Assistência Técnica e Extensão Rural (Pnater), e a Política de Garantia de Preços Mínimos para Produtos da Sociobiodiversidade (PGPMBio).

A PNAN tem como propósito a melhoria das condições de alimentação, nutrição e saúde da população brasileira, mediante a promoção de práticas alimentares adequadas e saudáveis, a vigilância alimentar e nutricional, a prevenção e o cuidado integral dos agravos relacionados à alimentação e nutrição (BRASIL, 2013). Pontos positivos da PNAN consistem no desenvolvimento da vigilância alimentar e nutricional; a construção da agenda de promoção da alimentação adequada e saudável, principalmente a partir da edição de guias alimentares para a população brasileira; e a qualificação de recursos humanos em alimentação e nutrição, sobretudo a partir do trabalho da rede de Centros Colaboradores de Alimentação e Nutrição (RECINE; VASCONCELOS, 2011).

O PAA se dá por meio da facilitação de compras governamentais de alimentos oriundos da agricultura familiar, para a formação de estoques estratégicos e distribuição à população em maior vulnerabilidade social, dispensando processos licitatórios, o que favorece uma aproximação entre o pequeno produtor e o consumidor (BRASIL, 2011).

O Pronaf financia projetos individuais ou coletivos, que gerem renda aos agricultores familiares e assentados da reforma agrária (BRASIL, 2006). Enquanto a Pnater objetiva prestar serviço de educação não formal, de caráter continuado, no meio rural promovendo processos de gestão, produção, beneficiamento e comercialização das atividades e dos serviços agropecuários e não agropecuários, inclusive das atividades agroextrativistas, florestais e artesanais (BRASIL, 2010).

No que diz respeito à PGPMBio, esta tem como objetivos reduzir variações na renda dos extrativistas e apoiar a valorização de seus produtos. A operacionalização da PGPMBio é de responsabilidade da Companhia Nacional de Abastecimento, a qual

determina o preço mínimo para certos produtos oriundos de extrativismo, e paga um benefício correspondente à diferença entre o preço mínimo definido pelo governo e o preço de venda dos produtos, na forma de subsídio. Sendo assim, busca estruturar arranjos produtivos sustentáveis, apoiando iniciativas que valorizam os conhecimentos dos povos e comunidades tradicionais (VIANA, 2015).

O PGPMBio tem se aplicado ao açaí (fruto), andiroba (amêndoa), babaçu (amêndoa), baru (amêndoa), borracha extrativista (cernambi), cacau extrativo (amêndoa), castanha-do-brasil (com casca), carnaúba (cera bruta gorda e pó cerífero tipo B), juçara (fruto), macaúba (fruto), mangaba (fruto), pequi (fruto), piaçaba (fibra), pinhão (fruto) e umbu (fruto) (BRASIL, 2017). A lista é dinâmica, o número de alimentos inseridos na política tem potencial para ser aumentado, uma vez que se estima a participação de 192 diferentes espécies coletadas para fins econômicos e de subsistência na América Latina.

A coleta de plantas silvestres contribuiu com 3,87 % do total da renda de famílias residentes em zona rural, mesmo grande parte não tendo sua comercialização incentivada pelos programas governamentais citados (HICKEY et al., 2016). Sendo assim, os alimentos silvestres já são parte da cultura alimentar dessas populações e são particularmente importantes no fornecimento de nutrientes necessários à promoção da saúde para os indivíduos da comunidade. Torna-se fundamental então que o PGPMBio passe a englobar um número maior de espécies relevantes à economia local, frente ao potencial que os alimentos silvestres representam para a programação da segurança alimentar nacional e fortalecimento da economia local.

As políticas citadas contribuem para o aumento da diversidade alimentar, do uso de tecnologias sustentáveis, diminuição do êxodo rural e erosão genética, fomentando uma reconexão do homem com a origem do seu alimento (RIGON; SCHMIDT; BÓGUS, 2016). Contudo, é contínuo o desafio de instituir uma política soberana de abastecimento alimentar, com democratização dos sistemas de comercialização por meio do apoio a circuitos curtos de produção e consumo, combinados com uma política de agricultura urbana e periurbana além de outras que favoreçam a disponibilidade e o acesso a alimentos saudáveis, principalmente vegetais verdes folhosos provenientes de PANCs.

Para isso, no âmbito internacional, é importante que o respeito ao direito humano à alimentação adequada e à soberania alimentar dos povos, assim como a

participação social nas tomadas de decisão, sejam princípios seguidos nas relações transfronteiriças, obrigações extraterritoriais, negociações internacionais de clima e comércio e também nos tratados bilaterais. No âmbito local, é importante o desenvolvimento de políticas públicas de curto e longo prazo que contribuam para minimizar o efeito da perda da biodiversidade e que promovam a soberania alimentar no território Brasileiro.

2.4 PANCs E O PEIXINHO DA HORTA (*Stachys byzantina* K. Koch)

No território brasileiro, numerosos estudos etnobotânicos com foco no comportamento alimentar em comunidades buscam identificar espécies vegetais importantes na alimentação local. Tem sido sugerido que as PANCs são componentes consideravelmente relevantes para a provisão de alimentos à população.

As PANCs participam da gastronomia tradicional brasileira de diversas maneiras, conforme apresentado na Tabela 1. Essas espécies são consumidas *in natura*, como parte de preparações de pratos tradicionais, em bebidas ou ainda na forma de condimentos em alimentos doces ou salgados. Desta forma, mostram um grande potencial para aproveitamento na alimentação.

TABELA 1 - LISTA DE PANCs FOLHOSAS TRADICIONALMENTE CONSUMIDAS NO BRASIL

Família	Nome científico	Nomenclatura usual	Uso	Região	Referências
Amarantaceae	<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Caruru	Refogada em molhos e caldos	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Apiaceae	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Coentro	Salada e tempero	Igarassu e Paulista, Pernambuco	SILVA; ANDRADE, 2005
Araceae	<i>Xanthosoma sagittifolium</i> (L.) Schott	Taioba	-	Ribeirão da Ilha, Santa Catarina; Baixo Tapajós	LEAL; ALVES; HANAZAKI, 2018, CHAVES, 2016
Asteraceae	<i>Erechtites valerianifolius</i> (Link ex Spreng.) DC.	Capiçova	Refogada em molhos e caldos	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Asteraceae	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Serralha do mato	Refogada em molhos e caldos	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Asteraceae	<i>Vernonanthura patens</i> (Kunth) H. Rob.	Cambará	Empanada	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Asteraceae	<i>Acmella oleracea</i> (L.) R. K.Jansen	Jambu	Em preparações	Baixo Tapajós	CHAVES, 2016
Bromeliaceae	<i>Aechmea comata</i> (Gaudich.) Baker	Roméia, "Chup-chup", gravatá	-	Ribeirão da Ilha, Santa Catarina	LEAL; ALVES; HANAZAKI, 2018
Cactaceae	<i>Pereskia aculeata</i> Mill.	Óra-pro-nobis	Refogada em molhos e caldos	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015

Cactaceae	<i>Pilosocereus pachycladus</i> subsp. <i>pernambucensis</i> (Ritter) Zappi	Facheiro	Geléia	Altinho, Pernambuco	CRUZ et al., 2013, NASCIMENTO et al., 2013
Cucurbitaceae	<i>Cucumis anguria</i> L.	Maxixe	Em preparações	Baixo Tapajós	CHAVES, 2016
Euphorbiaceae	<i>Manihot esculenta</i> Crantz.	Mandioca	Refogada em molhos e caldos	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Lamiaceae	<i>Stachys byzantina</i> K. Koch	Peixinho da horta	Empanada	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Lauraceae	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Garcin ex Blume	Canela	Em preparações	Baixo Tapajós	CHAVES, 2016
Malvaceae	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Vinagreira	Em preparações	Baixo Tapajós	CHAVES, 2016
Myrtaceae	<i>Eugenia uniflora</i> L.	Pitangueira	Molho	Ribeirão da Ilha, Santa Catarina	LEAL; ALVES; HANAZAKI, 2018
Oxalidaceae	<i>Oxalis corniculata</i> L.	Trevo azedo	<i>In natura</i>	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Piperaceae	<i>Piper jaborandi</i> Vell.	Jaborandi	Empanada	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Poaceae	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Capim-limão	Suco	Ribeirão da Ilha, Santa Catarina; Igarassu e Paulista, Pernambuco	LEAL; ALVES; HANAZAKI, 2018, SILVA; ANDRADE, 2005
Polygonaceae	<i>Rumex acetosa</i> L.	Azedinha	<i>In natura</i>	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Beldroega	<i>In natura</i>	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Rutaceae	<i>Esenbeckia almawillia</i> Kaastra	Coca	“Garapa” (caldo de cana de açúcar quente)	Corumbá, Mato Grosso do Sul	BORTOLOTO et al., 2015
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i> L.	Laranja da terra	Em preparações	Baixo Tapajós	CHAVES, 2016
Solanaceae	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Tomate	Refogada em molhos e caldos	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Tropaeolaceae	<i>Tropaeolum majus</i> L.	Capuchinha	<i>In natura</i>	Viçosa, Minas Gerais	BARREIRA et al., 2015
Verbenaceae	<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson	Cidreira	Em preparações	Baixo Tapajós	CHAVES, 2016

FONTE: A autora (2018).

A espécie *Stachys byzantina* K. Koch, conhecida popularmente como peixinho da horta, lambari de folha ou pulmonária (Figura 1), pertence à classe Magnoliatae, subclasse Asteridae, família Lamiaceae. Tem origem na Turquia, Ásia e Cáucaso; porém, pode ser encontrada em regiões de clima ameno, com temperaturas entre 5 e 30 °C. No Brasil, é cultivada nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. É uma herbácea perene, atinge cerca de 30 cm de altura e forma touceiras com dezenas de propágulos. É uma planta rústica, com baixas exigências e bastante tolerante ao ataque de pragas e doenças. A colheita de folhas é feita a partir de 60-70 dias, à medida que elas atingem tamanho superior a 8 cm, podendo alcançar facilmente a 15 cm (KINUPP; LORENZI, 2014; BRASIL, 2010).

No Brasil, o peixinho da horta ainda é pouco encontrado em grandes mercados, sendo geralmente comercializado em feiras de produtos agroecológicos. A compra costuma ser feita antecipadamente por encomenda e a entrega realizada semanalmente em espaço destinado a esse tipo de comércio (PEREIRA et al., 2013).

FIGURA 1 - CANTEIRO DE CULTIVO DA *Stachys byzantina* K. Koch NO CENTRO PARANAENSE DE REFERÊNCIA EM AGROECOLOGIA - CPRA



FONTE: A autora (2016)

Suas folhas se destacam quanto ao teor de proteínas (SILVA et al., 2018), o que faz com que tenham um bom potencial de aplicação como elemento proteico em dietas livres de produtos de origem animal, como é o caso, por exemplo, da dieta vegetariana estrita. Além disso, as proteínas presentes nas folhas poderiam ainda ser utilizadas para o desenvolvimento de fórmulas proteicas de origem vegetal, que tem como vantagem a ausência de colesterol. Com relação aos compostos bioativos, as amostras apresentaram elevada atividade antioxidante e alta quantidade de fenólicos totais, o que pode contribuir para sua elevada resistência a pragas, juntamente com a grande espessura e pilosidade das folhas (HAJIMEHDIPOOR et. al., 2014).

O peixinho da horta é uma planta alimentícia, contudo não é normalmente aproveitada na alimentação das populações que habitam os ambientes onde é nativa, mas em outros locais, com destaque para o Brasil, onde tem sido consumida, usualmente, empanada e frita. Pouco se sabe a respeito do potencial alimentício da espécie, assim como seu aspecto nutricional. Sendo assim, é interessante o investimento em pesquisas que objetivem ampliar o conhecimento e aplicabilidade dessa planta na alimentação.

CAPÍTULO 2: ARTIGO 1

O presente artigo foi redigido conforme as normas da revista Journal of Food Composition and Analysis.

Caracterização nutricional e avaliação da qualidade proteica das folhas de *Stachys bizantina* K. Koch, uma planta alimentícia não convencional

Thaise Duda de AZEVEDO^a, Christiane QUEIROZ^b, Sila Mary Rodrigues FERREIRA^b,
Claudia Carneiro Hecke KRÜGER^{b*}

^a*Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico, 80210-170 Curitiba, Paraná, Brasil.*

^b*Departamento de Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico, 80210-170 Curitiba, Paraná, Brasil.*

*Corresponding author: Claudia Carneiro Hecke Krüger. Tel.: +55 41 33604017. E-mail: cchecke@ufpr.br.

Resumo

Stachys byzantina K. Koch, popularmente conhecida como “peixinho da horta”, pertence à família *Lamiaceae*. É crescente a utilização das folhas da *S. byzantina* na alimentação. Contudo, pouco é conhecido sobre o seu valor nutricional. Com a finalidade de preencher tal lacuna, a presente pesquisa apresenta a composição nutricional das folhas, bem como a qualidade proteica, a qual foi determinada com base na composição de aminoácidos e digestão da proteína *in vitro*. As folhas se destacam pelos teores de fibras ($48,8 \pm 2,1$ %), proteínas ($19,2 \pm 0,7$ %), carboidratos ($10,13 \pm 0,75$ %), potássio ($1900,5 \pm 7,4$ mg/100 g) e ferro ($0,48 \pm 0,06$ mg/100 g). As concentrações de treonina, triptofano, fenilalanina, tirosina e aminoácidos sulfurados atendem as necessidades nutricionais de crianças e adultos estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde. Em conclusão, as folhas podem contribuir consideravelmente para a nutrição dos consumidores.

Palavras-chaves: Qualidade nutricional; Plantas alimentícias; Proteínas vegetais; *Lamiaceae*.

1 Introdução

Com a finalidade de promover hábitos alimentares saudáveis entre a população brasileira, o Guia Alimentar para a População Brasileira destaca a importância do consumo de verduras *in natura* ou minimamente processadas (Brasil, 2014). O Guia Alimentar Americano recomenda o consumo de 2 1/2 xícaras de hortaliças por dia, incluindo 1 1/2 xícara de verduras por semana. Além disso, o mesmo guia identifica “hortaliças” como “Alimentos ricos em nutrientes”, ou seja, alimentos que fornecem vitaminas, minerais e outras substâncias que contribuem para a ingestão adequada de nutrientes ou podem ter efeitos positivos na saúde (USDA, 2015). Abordagens semelhantes são seguidas por guias alimentares de outros países, como a Islândia, a Noruega, a Alemanha e a Suíça. Esses países adotam uma política de incentivo a hábitos alimentares saudáveis que inclui o consumo de pelo menos cinco porções de frutas e hortaliças variadas por dia uma vez que essas são importantes fontes de fibras e micronutrientes na dieta humana (WHO, 2003).

O consumo de fibras alimentares tem sido positivamente associado à redução na liberação de açúcar durante a digestão, redução na absorção de macronutrientes, promoção da saciedade e modulação da secreção de hormônios intestinais (Fuller et al., 2018). A combinação desses efeitos é benéfica para o tratamento e prevenção da síndrome metabólica, um transtorno complexo composto por um conjunto de fatores de risco cardiovascular, geralmente relacionado à deposição central de gordura e resistência à insulina. O aumento na incidência da síndrome metabólica entre a população mundial é de grande relevância e atrai a atenção do governo e das organizações de saúde (Monro & Mishra, 2010).

A proteína de origem vegetal tem recebido crescente atenção na pesquisa e indústria com foco em alimentos. Além disso, sua preferência de consumo tem aumentado entre os grupos populacionais que a consideram uma fonte proteica de origem mais sustentável (Hartmann & Siegrist, 2017).

Por uma outra perspectiva, a diversidade de compostos nutricionais no alimento desempenha um papel importante em sua função promotora da saúde. Portanto, além do consumo de vegetais, as recomendações dietéticas também enfatizam a importância da variabilidade nas espécies de vegetais consumidas. No entanto, a identificação dos compostos nutricionais presentes em diversas plantas alimentícias ainda é incompleta. Essa questão pode dificultar o desenvolvimento de recomendações nutricionais mais precisas, baseadas em conhecimentos científicos e otimizadas para populações e indivíduos com necessidades ou preferências especiais.

Mais de 7.000 espécies de plantas são cultivadas no mundo (Rehm & Espig, 1991). No entanto, apenas cerca de 150 dessas culturas são comercializadas em escala global, das quais apenas três predominam: trigo, milho e arroz (Bharucha & Pretty, 2010). Esse cenário conduz a uma padronização progressiva das dietas e, consequentemente, a uma negligência e abandono de uma enorme diversidade de plantas comestíveis que poderiam contribuir positivamente para a soberania alimentar e a segurança alimentar e nutricional das populações, como a *Stachys byzantina* K.Koch (Toledo & Burlingame, 2006).

S. byzantina é uma espécie perene, comumente conhecida como “peixinho da horta”, pertencente à classe Magnoliatae, à subclasse Asteridae e à família Lamiaceae. As folhas do peixinho da horta são comestíveis e usualmente consumidas empanadas e fritas, embora não sejam comumente encontradas em grandes

mercados, mas sim em feiras agroecológicas (Kinupp & Lorenzi, 2014). Apesar de ser um vegetal cultivado e consumido no sul do Brasil, assim como em outras regiões de clima temperado, e possivelmente constituir uma interessante fonte proteica de origem vegetal (Silva et al., 2018), pouco se conhece sobre o valor nutricional das folhas de *S. byzantina*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade nutricional de folhas de *S. byzantina* cultivadas no estado do Paraná, Brasil, por meio da determinação da composição de macro e micronutrientes. Além disso, os achados referentes à composição de aminoácidos e digestão *in vitro* foram utilizados para determinar a qualidade nutricional das proteínas dessas folhas.

2 Material e métodos

2.1 Reagentes e padrões

O kit para análise de fibra dietética total (TDF100A), assim como todos os padrões foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Os outros produtos químicos e reagentes eram de grau analítico ou cromatográfico.

2.2 Preparo da mostra

Uma amostra composta com 2,5 kg de folhas de *S. byzantina* foi coletada em três locais diferentes na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná (25,3824606 S, 49,1270613 W, 912 m; 25,2965213 S 49,4353102 W, 872 m; 25,3075581 S, 49,2013473 W, 1000 m) em janeiro de 2017, onde a temperatura média era de $27,8 \pm 1,0$ °C. Folhas verdes saudáveis foram retiradas de diferentes partes de várias plantas de uma população. Exsicatas foram preparadas, identificados botanicamente e depositados no Herbário UPCB, no Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná, Brasil (número de identificação: 92772). A autorização de acesso a esta planta para pesquisa científica foi emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (número de registro: AB634FD). As folhas foram coletadas, lavadas, liofilizadas, moídas e armazenadas a - 20 °C em sacos plásticos selados.

2.3 Composição físico-química e teor energético total

A composição físico-química das folhas de *S. byzantina* incluiu as análises de umidade, resíduo mineral fixo, lipídios, proteínas, fibras totais, sólidos solúveis totais e pH, e foram realizadas de acordo com metodologia descrita por AOAC (2005). Análises de umidade, pH e sólidos solúveis totais foram conduzidas com as folhas frescas e as demais análises foram conduzidas nas folhas liofilizadas. O teor de umidade foi avaliado em estufa de circulação de ar a 105 °C. O teor de cinzas foi determinado após completa queima da amostra a 550 °C. O conteúdo lipídico foi determinado por extração a quente com éter de petróleo, de acordo com o método Soxhlet. O teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl e 6,25 foi o valor utilizado como fator de conversão. O conteúdo de carboidratos foi calculado por diferença, subtraindo os valores medidos para proteínas, gorduras, cinzas, fibras e umidade do peso total (FAO, 1998). O teor de fibra alimentar foi medido de acordo com o método enzimático-gravimétrico. O teor de sólidos solúveis totais das amostras foi determinado pelo suco liberado das folhas frescas após compressão, utilizando um refratômetro digital (Instrutherm® RTD-95, São Paulo, Brasil). O pH das folhas foi determinado pelo processo eletrométrico. O fator de conversão de Atwater foi utilizado para estimar os teores de energia metabolizável das folhas de *S. byzantina*. Os fatores de conversão usados para proteínas, gorduras e carboidratos foram, respectivamente, 4 kcal/g, 9 kcal/g e 4 kcal/g. O conteúdo energético total é a soma dos valores calculados para proteínas, gorduras e carboidratos (Osborne & Voogt, 1978).

2.4 Minerais

Os minerais foram analisados por espectrofotometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, em espectrofotômetro com visão axial (Varian® 720-ES, Paulo Auto, EUA). Aproximadamente 1 g de material orgânico liofilizado foi incinerado em uma mufla (Robertshaw® Indigo 50, Itasca, EUA) a 550 °C, com o resíduo inorgânico sendo dissolvido em água quente e filtrado em balão volumétrico de 50 mL, juntamente com 5 mL de ácido nítrico concentrado. Finalmente, o volume foi completado com água MilliQ®. O ácido nítrico 10 % foi utilizado como branco (AOAC, 2005).

2.5 Qualidade nutricional das proteínas das folhas

2.5.1 Análise de aminoácidos

A análise de aminoácidos foi conduzida de acordo com as metodologias descrita por White et al. (1986) e Hagen et al. (1989), por hidrólise ácida com HCl 6 N e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (Waters® Alliance, Milford, EUA), coluna C18 4,6 x 150 mm de 2,7 µm (Waters®, Milford, EUA), com fluxo contínuo de 1 mL/min, fases A e B (gradiente), 55 °C e 254 nm. O triptofano foi quantificado, segundo Lucas & Sotelo (1980), por hidrólise enzimática com pancreatina (Sigma®, St. Louis, EUA) a 45 °C por 24 horas, seguido da diluição das amostras em solução contendo ácido diamino benzaldeído em H₂SO₄, com as amostras diluídas sendo mantidas em condições escuras por 6h. Posteriormente, foi adicionado nitrito de sódio à solução, que foi mantida em condições escuras por 30 min. Finalmente, as amostras foram transferidas para cubetas de quartzo e analisadas em comprimento de onda 590 nm (Femto® 600S, São Paulo, Brasil).

2.5.1.1 Contagem de aminoácidos

A contagem de aminoácidos foi calculada de acordo com a OMS (2007), segundo a equação 1.

Contagem de aminoácidos = mg do aminoácido em 1 g da proteína teste/mg do aminoácido essencial de referência (eq. 1)

Para a avaliação, foram considerados os padrões de referência da OMS, com base nas necessidades de crianças (1-2 anos) e adultos.

2.5.1.2 Valor biológico predito

O valor biológico predito foi calculado de acordo com Morup & Olesen (1976) conforme relatado por Zengin et al. (2012), segundo a equação 2.

Valor biológico predito = $10^{2,15} \times \text{Lisina}^{0,41} \times (\text{Fenilalanina} + \text{Tirosina})^{0,60} \times (\text{Metionina} + \text{Cisteína})^{0,77} \times \text{Tirosina}^{0,24} \times \text{Triptofano}^{0,21}$ (eq. 2)

Os valores dos aminoácidos são:

% aminoácido/% de aminoácidos recomendada pela OMS (2007) para adultos, se % aminoácido \leq % de aminoácidos recomendada pela OMS (2007)

ou:

% de aminoácidos recomendada pela OMS (2007) para adultos/ % aminoácido, se % de aminoácidos recomendada pela OMS (2007) \leq % aminoácido

2.5.1.3 Razão de eficiência da proteína

A razão de eficiência da proteína foi calculada de acordo com Alsmeyer et al. (1974), conforme relatado por Zengin et al. (2012), segundo as equações 3, 4 e 5:

$$\text{PER1} = - 0,684 + 0,456 \times \text{Leucina} - 0,047 \times \text{Proteína (eq. 3)}$$

$$\text{PER2} = - 0,468 + 0,454 \times \text{Leucina} - 0,105 \times \text{Tirosina (eq. 4)}$$

$$\text{PER3} = - 1,816 + 0,435 \times \text{Metionina} + 0,78 \times \text{Leucina} + 0,211 \times \text{Histidina} - 0,944 \times \text{Tirosina (eq. 5)}$$

2.5.2 Digestão gastrointestinal *in vitro*

A digestão *in vitro* foi realizada de acordo com método descrito por Minekus et al. (2014). A simulação da fase oral foi realizada com 1 g da amostra liofilizada umidificada com 10,5 mL do fluido salivar, 3,0 mL de solução de alfa-amilase a 375 U/mL (alfa-amilase da solução de *Aspergillus niger*, 12143 U/mL, Sigma®), 75 µL de CaCl₂ 0,3 M e 425 µL de água destilada. A mistura foi homogeneizada e incubada por 2 minutos a 37 °C. Em seguida, o pH foi ajustado para 3,0 com aproximadamente 0,5 mL de HCl 6 M e foram adicionados 12,5 mL do fluido gástrico, 2 mL de pepsina suína a 727 U/mg (pepsina da mucosa gástrica suína, 727 U/mg, Sigma®) e 7,5 µL de CaCl₂ 0,3 M. A mistura foi homogeneizada e incubada por 2 horas a 37 °C sob agitação para a simulação da fase gástrica. Após, para a simulação da fase intestinal, foram adicionados 14,58 mL do fluido intestinal, 15 mL de pancreatina (8 x USP, Sigma®), 90 mg de bile fresca a 160 mM (Sigma®), 120 µL de CaCl₂ 0,3 M e aproximadamente 0,3 mL de NaOH para atingir pH 7,0. A mistura foi novamente homogeneizada e incubada por 2 horas a 37 °C sob agitação. Por fim, as amostras foram centrifugadas por 20 min a 5000 x g. Cada etapa da digestão foi feita separadamente. Sobrenadantes e precipitados foram separados, armazenados sob congelamento a - 20 °C e utilizados em análises posteriores. A concentração dos eletrólitos presente

nos fluidos salivar, gástrico e intestinal está descrito na Tabela 1. Um branco da digestão foi conduzido em paralelo.

Tabela 1

Concentração de eletrólitos nos fluidos salivar, gástrico e intestinal

Componente	Fluido salivar (mm/L)	Fluido gástrico (mm/L)	Fluido intestinal (mm/L)
K ⁺	18,8	7,8	7,6
Na ⁺	13,6	72,2	123,4
Cl ⁻	19,5	70,2	55,5
H ₂ PO ₄ ⁻	3,7	0,9	0,8
HCO ₃ ⁻	13,7	25,5	85
Mg ²⁺	0,15	0,1	0,33
NH ₄ ⁺	0,12	1,0	-
Ca ²⁺	1,5	0,15	0,6

FONTE: Minekus et al. (2014).

2.5.2.1 Digestibilidade das proteínas

A digestibilidade das proteínas *in vitro* foi avaliada pela diferença entre a proporção de proteínas no sobrenadante (proteína disponível) e no precipitado (resíduos indigeríveis).

A digestibilidade das proteínas foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$PD [\%] = (SP \times 100) / (SP + PP) \text{ (eq. 6)}$$

No qual PD corresponde à digestibilidade *in vitro* das proteínas, SP ao teor de proteínas no sobrenadante após a digestão *in vitro*, e PP ao teor de proteínas no precipitado após a digestão *in vitro*.

2.5.2.2 Escore de aminoácidos indispensáveis digeríveis (EAID)

EAID foi calculado de acordo com a OMS (2007).

EAID = digestibilidade × contagem de aminoácidos (eq. 7)

2.6 Análise estatística

Foi realizada estatística descritiva no software IBM® SPSS Statistics versão 22.0 (Armonk, NY, EUA), expressa pelos valores da média e desvio padrão, a fim de apresentar características nutricionais da etnovarietade de *Stachys byzantina* K. Koch coletada de diferentes áreas na região sul do Brasil.

3 Resultados e discussão

3.1 Composição físico-química e teor energético total

Os valores médios dos parâmetros avaliados na caracterização físico-química e do valor calórico das folhas de *S. byzantina* liofilizadas e *in natura* estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2

Composição físico-química e teor energético total das folhas de *S. byzantina* frescas e liofilizadas.

Componentes	Fresca	Liofilizada
Umidade (g/100 g)	78,22 ± 2,82	11,96 ± 0,08
Cinzas (mg/100 g)	1,70 ± 0,01	6,88 ± 0,03
Proteínas (g/100 g)	4,75 ± 0,17	19,22 ± 0,73
Lípidios (g/100 g)	0,75 ± 0,03	3,04 ± 0,13
Carboidratos (g/100 g)	2,51 ± 0,05	10,13 ± 0,75
Fibras alimentares totais (g/100 g)	12,07 ± 0,42	48,77 ± 2,14
pH	6,29 ± 0,08	-
Sólidos solúveis totais	6,13 ± 0,51	-
Valor energético (kcal/100 g)	35,79 ± 7,24	144,76 ± 0,39

Valores são médias de três determinações ± DP. N=3. A análise de fibras totais foi conduzida em duplicata.

As folhas frescas têm alto teor de umidade ($78,22 \pm 2,82$ %), que traz suculência às folhas e contribui positivamente para as suas propriedades sensoriais. De forma semelhante, as folhas frescas de *Mentha longifolia* L., que pertence à mesma família botânica da *S. byzantina*, apresentam teor de umidade de 79,20 % (Tunçtürk et al., 2017).

O teor de cinzas encontrado na amostra liofilizada ($6,88 \pm 0,03$ %) é semelhante àquele encontrado no *Thymus praecox* Opiz (7,00 %) (Tunçtürk et al., 2017), outra Lamiaceae. Com relação ao teor de cinzas na amostra fresca ($1,70 \pm 0,01$ %), este é semelhante àquele observado no espinafre (1,74 %), e maior do que o observado na alface (0,62 %), repolho (0,64 %) e rúcula (1,40 %) (USDA, 2016). Os valores de cinzas correlacionam-se com a quantidade de minerais presentes no alimento e são importantes para avaliar o conteúdo nutricional de macro e microminerais. O perfil mineral das folhas de *S. byzantina* está descrito na Tabela 3.

O teor de proteínas na amostra liofilizada ($19,22 \pm 0,73$ %) foi superior ao observado nas folhas de outras plantas da família Lamiaceae (Castrillo et al., 2005, Mlitan et al., 2014, Tunçtürk et al., 2017) e também superior ao observado em folhas liofilizadas de *Pereskia aculeata* (18,66 %), planta que é uma PANC reconhecida como importante fonte proteica (Trennepohl, 2016). Estudos sugerem que padrões alimentares com predomínio de alimentos de origem vegetal, especialmente como fonte proteica, em detrimento daqueles de origem animal, contribuem para uma redução significativa das emissões de gases do efeito estufa e uso da terra e da água, o que é benéfico ao meio ambiente (Aleksandrowicz et al., 2016).

O conteúdo lipídico da amostra liofilizada ($3,04 \pm 0,13$ %) não é elevado, sendo relativamente semelhante ao que é comumente observado nas folhas em geral (USDA, 2016). O consumo de gordura de origem vegetal tem sido considerado um fator de proteção contra importantes doenças crônicas relacionadas à dieta, incluindo diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares, hipertensão, acidente vascular cerebral e certas formas de câncer. Esse fator protetivo contra o desenvolvimento de câncer parece estar relacionado à ausência de colesterol, baixa concentração de ácidos graxos saturados e presença de substâncias bioativas, como os terpenóides, que parecem impedir a proliferação de células tumorais por necrose ou indução de apoptose mesmo em baixas quantidades (Bakkali et al., 2008).

Em relação ao teor de carboidratos nas folhas frescas ($2,51 \pm 0,05$ %), esse é semelhante ao observado na alface (2,87 %) (USDA, 2016). Nas plantas, as folhas

constituem a principal área de síntese de carboidratos, os quais são produzidos a partir do dióxido de carbono atmosférico e da água. Os polímeros de frutose, chamados frutanos, constituem importantes polissacarídeos de armazenamento nas folhas. Ainda, a sacarose, um dissacarídeo formado pela alfa-glicose e uma beta-frutose, também é comumente encontrada nas folhas por ser a principal forma na qual os carboidratos são transportados entre os tecidos do vegetal (Nelson & Cox, 2014). O consumo de carboidratos é necessário para manter o funcionamento normal do cérebro, da medula renal, dos glóbulos vermelhos e dos tecidos reprodutivos (Fonseca-Azevedo & Herculano-Houzel, 2012).

Uma grande quantidade de fibras foi identificada na amostra. Uma porção de 45,0 g, ou 1 ½ xícara de folhas frescas de *S. byzantina* (USDA, 2015) contém aproximadamente 5,4 g de fibra, um valor que atende a cerca de 22 % da ingestão diária recomendada para esse nutriente (Institute of Medicine, 2005a) e é suficiente para que a porção seja descrita como uma alta fonte de fibras (Brazil, 2012). Além disso, o conteúdo energético observado nessa porção (menos de 40 kcal) é considerado baixo (Brazil, 2012). Alta umidade, alto teor de fibras e baixo teor de lipídios são os principais fatores que contribuem para o baixo valor calórico das folhas frescas de *S. byzantina*. Estudos científicos sugerem que o consumo adequado de fibras tem um efeito protetor contra o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como doenças cardiovasculares (Institute of Medicine, 2005a).

O valor de pH das folhas frescas foi de 6,29, que é classificado como ligeiramente ácido. Este fato deve-se principalmente aos teores de açúcares e ácidos orgânicos presentes no alimento, confirmados pela avaliação do teor de sólidos solúveis (6,13 °Brix). Esse é um parâmetro importante para determinar os padrões de controle de qualidade de produtos alimentícios, que se relaciona, em vegetais, com seu frescor e doçura.

3.2 Minerais

Os teores dos minerais avaliados nas folhas frescas e liofilizadas de *S. byzantina* estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3Composição de minerais nas folhas de *S. byzantina* frescas e liofilizadas.

Minerais	Fresca (mg/100 g)	Liofilizada (mg/100 g)
Macrominerais		
Cálcio	2,82 ± 0,05	11,40 ± 0,20
Magnésio	1,99 ± 0,02	8,05 ± 0,06
Fósforo	21,82 ± 0,21	88,16 ± 0,57
Potássio	470,15 ± 1,82	1900,45 ± 7,36
Sódio	12,78 ± 0,04	51,68 ± 0,17
Microminerais		
Cobre	< 0,002	< 0,01
Cromo	0,01 ± 0,00	0,04 ± 0,00
Ferro	0,12 ± 0,01	0,48 ± 0,06
Manganês	< 0,002	< 0,01
Selênio	< 0,002	< 0,01
Zinco	0,05 ± 0,00	0,18 ± 0,01

Valores são médias de três determinações ± DP.

A composição mineral das plantas é um resultado integrado das interações entre os processos endógenos da planta e o ambiente, especialmente a composição mineral do solo (Zhao et al., 2017). Nenhum fertilizante foi usado no cultivo da planta coletada para esse estudo, ao contrário da maioria dos vegetais normalmente disponíveis no mercado.

Nas folhas de *S. byzantina*, o potássio e o ferro são o macromineral e micromineral mais abundantes, respectivamente. O teor de potássio (470,15 mg/100 g) observado nas folhas frescas é maior do que o encontrado em plantas mais conhecidas, como repolho (170 mg/100 g) e alface (194 mg/100 g). Além disso, o teor de sódio (12,78 mg/100 g nas folhas frescas) foi menor do que o observado nessas duas plantas (18 mg/100 e 28 mg/100 g, respectivamente) (USDA, 2016). A partir de dados publicados com base na Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009 no Brasil (IBGE, 2011), observa-se que o consumo médio de sódio na população brasileira adulta (3.223 mg/dia) é superior ao limite máximo sugerido pelo Instituto de Medicina (2.300 mg/dia), enquanto a ingestão de potássio (2.408 mg/dia) é grandemente inferior à recomendação (4700 mg/dia) (Institute of Medicine, 2005b).

De forma similar, pesquisas recentes demonstram que nos Estados Unidos o consumo de potássio é de cerca de metade das necessidades diárias, enquanto a ingestão diária de sódio ultrapassa as recomendações (Whelton, 2018).

Estudos com indivíduos que apresentam sintomas hipertensivos sugerem que a pressão arterial diminui quando a ingestão de sódio é reduzida na dieta e que esse efeito é ampliado por uma dieta rica em potássio, especialmente quando são consumidos níveis mais elevados de sódio (McDonough & Yun, 2017). Portanto, o consumo de folhas de *S. byzantina*, ricas em potássio e pobres em sódio, é interessante para esse grupo.

S. byzantina, similarmente a várias espécies de vegetais, pode contribuir para suprir as necessidades de ferro da população. Este é um micronutriente comumente deficiente na dieta de grupos como mulheres grávidas e crianças, especialmente naqueles com menor renda. Da mesma forma que a hipertensão, essa deficiência é uma preocupação para a saúde pública internacional; assim, o incentivo ao consumo de vegetais pode ser uma abordagem importante contra deficiências nutricionais em grupos de risco.

3.3 Qualidade nutricional proteica

A qualidade nutricional de uma fonte proteica está intimamente relacionada às características e à quantidade de aminoácidos presentes na estrutura das proteínas (FAO, 2013). Os resultados do perfil de aminoácidos das folhas de *S. byzantina* estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4

Composição de aminoácidos nas folhas de *S. byzantina* frescas e liofilizadas.

Aminoácidos	Fresca (g/100 g)	Liofilizada (g/100 g)
Essenciais		
Arginina	0,10 ± 0,01	0,66 ± 0,03
Histidina	0,04 ± 0,00	0,27 ± 0,01
Isoleucina	0,08 ± 0,00	0,50 ± 0,03
Leucina	0,16 ± 0,01	1,03 ± 0,05
Lisina	0,12 ± 0,01	0,79 ± 0,04
Metionina	0,02 ± 0,00	0,13 ± 0,01

Fenilalanina	0,10 ± 0,00	0,64 ± 0,03
Treonina	0,11 ± 0,01	0,71 ± 0,04
Triptofano	0,06 ± 0,00	0,37 ± 0,02
Valina	0,10 ± 0,00	0,65 ± 0,03
Σ Subtotal	0,89	5,75
Não-essenciais		
Ácido aspártico	0,18 ± 0,01	1,20 ± 0,06
Alanina	0,11 ± 0,01	0,69 ± 0,03
Cistina	ND	ND
Glicina	0,11 ± 0,01	0,70 ± 0,04
Ácido glutâmico	0,20 ± 0,01	1,28 ± 0,06
Prolina	0,10 ± 0,00	0,63 ± 0,03
Serina	0,08 ± 0,00	0,51 ± 0,03
Taurina	0,01 ± 0,00	0,07 ± 0,00
Tirosina	0,07 ± 0,00	0,45 ± 0,02
Σ Subtotal	0,86	5,53
Aminoácidos totais	1,75	11,28
Aminoácidos sulfurados (Met + Cis)	0,02	0,13
Aminoácidos aromáticos (Fen + Tir)	0,17	1,11

ND = Não detectado.

Observou-se um equilíbrio entre as concentrações de frações essenciais (50,9 %) e não essenciais (49,1 %) de aminoácidos nas proteínas estudadas nesta pesquisa. Os aminoácidos não-essenciais correspondem àqueles que em condições fisiológicas normais são sintetizados pelo organismo humano em quantidade suficiente para atender as suas necessidades fisiológicas, enquanto os aminoácidos essenciais não são; por isso devem ser adquiridos por meio da dieta (Nelson & Cox, 2014). A leucina (0,16 g/100 g) foi o aminoácido essencial mais abundante, similarmente ao encontrado em estudos com a *Moringa oleifera* e a *Momordica*

balsamina (Mune et al., 2016), quanto à investigação da qualidade proteica das folhas. Com relação aos aminoácidos não essenciais, o ácido glutâmico e o ácido aspártico foram os mais comuns em todas essas plantas.

Segundo a FAO (2013), os aminoácidos na dieta devem ser tratados como nutrientes individuais, e sua oferta em quantidades adequadas é crucial para promoção da saúde e o bem-estar dos indivíduos. Assim, os valores médios de aminoácidos essenciais das folhas de *S. byzantina* foram comparados ao padrão de referência da OMS (2007) para crianças (1-2 anos) e adultos, como mostrado nas Figuras 1 e 2.

Figura 1

Composição de aminoácidos (AA) das proteínas das folhas de *S. byzantina* (g/100 g proteína) em comparação com o padrão de aminoácidos sugerido pela OMS (2007) para os requerimentos diários de crianças (1-2 anos).

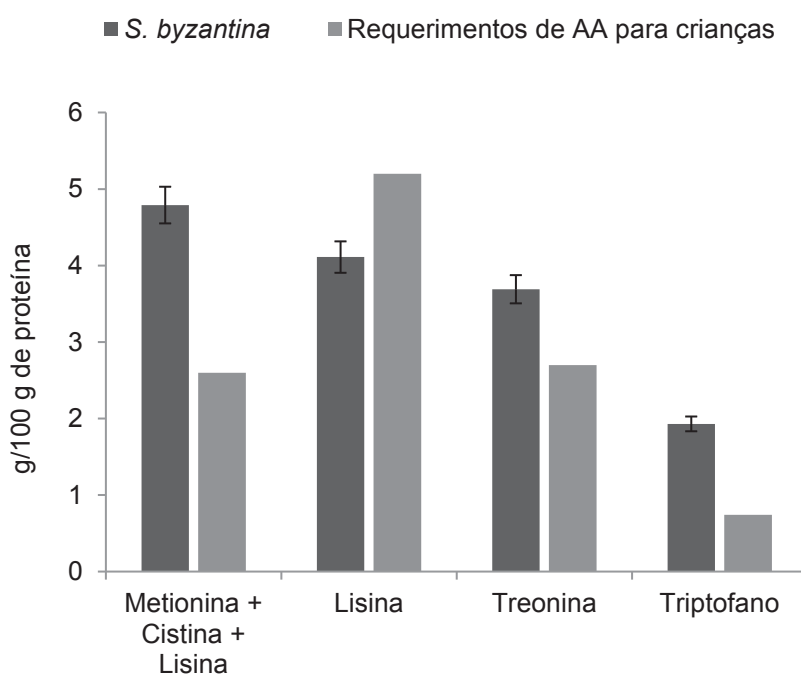
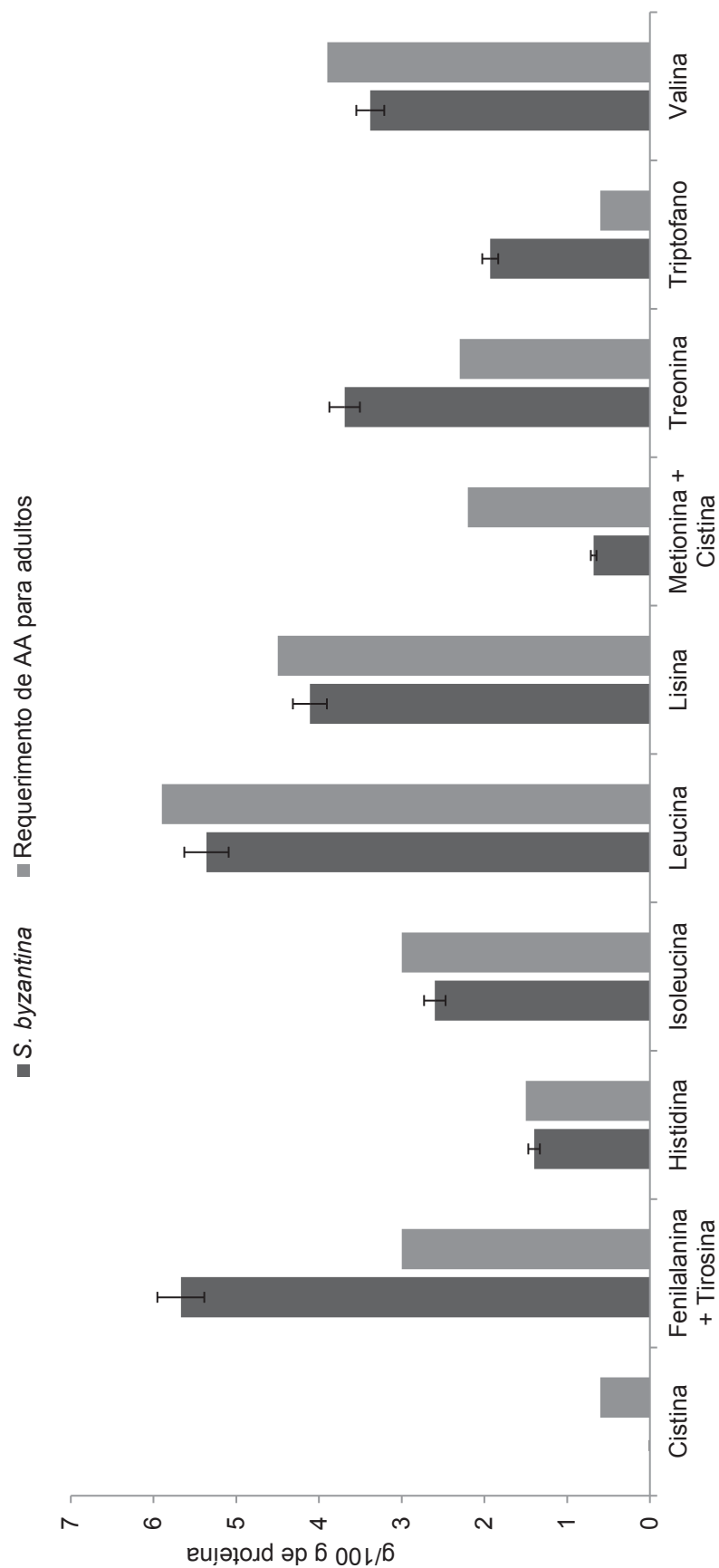


Figura 2
Composição de aminoácidos (AA) das proteínas das folhas de *S. byzantina* (g/100 g proteína) em comparação com o padrão de aminoácidos sugerido pela OMS (2007) para os requerimentos diários de adultos.



As concentrações de treonina, triptofano e a combinação de metionina, cistina e lisina nas proteínas das folhas de *S. byzantina* foram suficientes para atender às exigências da OMS (2007) em relação às necessidades das crianças. As concentrações de treonina, triptofano e a combinação de fenilalanina e tirosina foram suficientes para atender às necessidades dos adultos. Nas proteínas foliares de *S. byzantina*, o conteúdo de triptofano é 2,6 vezes maior do que o requerimento para crianças e 3,2 vezes maior do que o requerimento para adultos. Assim, ele pode ser útil na complementação de proteínas de leguminosas, grãos integrais e milho, os quais comumente, têm menor conteúdo de triptofano (USDA, 2016). A ingestão adequada de triptofano é importante uma vez que este tem papel relevante nas respostas adaptativas ao estresse em humanos (Palego et al., 2016).

Histidina, isoleucina, lisina e cistina apresentaram-se como aminoácidos limitantes, uma vez que existem na folha em concentrações abaixo da quantidade suficiente necessária para alcançar o padrão sugerido de aminoácidos atendendo aos requisitos da FAO para crianças e adultos. Por isso, o perfil de aminoácidos das folhas de *S. byzantina* se beneficia da combinação com proteínas de ovos, carne e soja, especialmente por serem ricos em aminoácidos que são limitantes nas folhas de *S. byzantina* (USDA, 2016).

Os resultados referentes à contagem de aminoácidos estão apresentados na Tabela 5 e foram calculados considerando o perfil de aminoácidos essenciais e o padrão de referência da OMS (2007). Os valores foram superiores aos encontrados por Nurzyńska-Wierdak (2015) nas folhas da *Eruca sativa* Mill (22,6 %). Os resultados sugerem que as folhas de *S. byzantina* podem contribuir positivamente para satisfazer a exigência de aminoácidos dos consumidores quando parte de uma dieta complementada por proteínas de diferentes fontes.

O valor biológico estima a proporção do nitrogênio absorvido retido no organismo, o que contribuirá para a síntese de proteínas (FAO, 1981). No caso deste estudo, o valor biológico da proteína da folha de *S. byzantina* foi predito com base na composição de aminoácidos, segundo Morup & Olesen (1976), e o valor obtido foi 26,3. Ayalew et al. (2017), ao estudar aspectos nutricionais das folhas de *Cocchnia abyssinica*, encontraram valor biológico predito de 47,09. Os valores inferiores a 40 são resultado das limitações nas concentrações de um ou mais aminoácidos essenciais na proteína testada (FAO, 1981).

Além desses aspectos, alguns países, como o Canadá, estabeleceram a razão de eficiência da proteína (PER) como indicador oficial da qualidade das proteínas nos alimentos. Em 1974, Alsmeyer et al. (1974) desenvolveram fórmulas empíricas para calcular o PER com base no perfil de aminoácidos. Assim, os valores de PER preditos obtidos para as proteínas da folha de *S. byzantina*, de acordo com a análise de aminoácidos, foram de 1,6, 1,7 e 0,75, para a primeira, segunda e terceira equações independentes, respectivamente. Estes valores são inferiores ao da caseína (2,5), proteína utilizada como referência para a avaliação do PER. Esta diferença provavelmente se deve às maiores quantidades de leucina, histidina e proteínas totais encontradas nas proteínas do leite. Os valores de PER para as folhas de *S. byzantina* são semelhantes aos encontrados em outros vegetais. Mune et al. (2016) relataram um valor de PER predito variando de 3,47 a 3,71 para a farinha de folhas de *Moringa oleifera*. Ayalew et al. (2017) relataram um valor de PER predito de 1,80 para as folhas de *Cocccnia abyssinica*.

Além disso, a digestibilidade proteica é um fator importante relacionado à avaliação da qualidade da proteína de função alimentar. A digestibilidade proteica das folhas de *S. byzantina*, medida *in vitro*, foi de 53,63 %, semelhante ao que se espera de proteínas vegetais. Ainda, o valor foi superior ao relatado por Mune et al. (2016) em relação à digestibilidade *in vitro* da farinha de folhas de *Moringa oleifera* (41,11 %).

Atualmente, a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2013) recomenda que o teste de digestão utilizado para avaliar a digestibilidade proteica seja realizado até o final do intestino delgado (íleo) e não até o final do intestino grosso, que era geralmente realizado para a medição do escore de aminoácidos corrigido pela digestibilidade da proteína (PDCAAS). Essa mudança aconteceu porque foi reconhecido que os aminoácidos são absorvidos apenas pelo intestino delgado e porque a fermentação do intestino grosso pode afetar a excreção fecal desses aminoácidos. O produto da digestibilidade da proteína ileal e a pontuação de aminoácidos fornecem valores de EAID que variam de 0 a 100. EAID para das folhas de *S. byzantina* estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5

Contagem de aminoácidos (CAA) e EAID para cada aminoácido das proteínas das folhas de *S. byzantina* com relação aos requerimentos de crianças de 1-2 anos (CR) e adultos (AD).

Aminoácidos	CAA para CR	EAID para CR	CAA para AD	EAID para AD
Histidina	-	-	0,94	50,45
Treonina	1	53,63	1	53,63
Valina	-	-	0,87	46,70
Cistina	-	-	0,00	0,00
Isoleucina	-	-	0,87	46,70
Leucina	-	-	0,91	48,84
Lisina	0,79	42,40	0,91	48,84
Triptofano	1	53,63	1	53,63
Metionina + Cistina	-	-	0,31	16,64
Fenilalanina + Tirosina	-	-	1	53,63
Metionina + Cistina + Lisina	1	53,63	-	-

- : Esse sinal significa que não há recomendação da OMS (2007) para o aminoácido nesse estágio da vida.

O relatório da FAO (2013) recomenda que nenhuma alegação nutricional seja dada para fontes de proteína com valores de EAID inferiores a 75,0, o presente estudo demonstra que os valores de EAID para a proteína das folhas de *S. byzantina* não atingem esse limiar. No entanto, a recomendação da FAO (2013) recomendação não é um consenso e a literatura científica sugere que alimentos de origem vegetal com teor proteico superior a 12 % do conteúdo calórico podem ser considerados boas fontes de proteína (Ayalew et al., 2017). O teor proteico das folhas *in natura* de *S. byzantina* representa 53 % do conteúdo calórico total.

4 Conclusão

Os resultados demonstram que as folhas de *S. byzantina* destacam-se pelos teores de carboidratos, fibras, proteínas, potássio e ferro. As folhas também podem contribuir consideravelmente para a ingestão diária necessária dos consumidores com relação aos aminoácidos essenciais. Espera-se que os resultados do presente estudo

contribuam para uma melhor nutrição daqueles que consomem este vegetal. Além disso, do ponto de vista acadêmico e tecnológico, esta pesquisa deverá enriquecer o banco de dados referente aos benefícios nutricionais do consumo das folhas de *S. byzantina*. Ainda, a planta pode ser utilizada no desenvolvimento de novos suplementos ou alimentos funcionais, tornando sua comercialização mais lucrativa para os pequenos agricultores que a cultivam. Recomenda-se mais pesquisas sobre consumo, preparação e processamento seguros para otimizar a biodisponibilidade dos seus nutrientes.

Agradecimentos

O financiamento para essa pesquisa foi fornecido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Os autores gostariam de agradecer a assistência técnica fornecido por Jair José de Lima, Lindamir Tullio e Luiz Covizzi, e aos agricultores que doaram amostras de suas lavouras e deram suporte durante a colheita. Os autores também gostariam de agradecer ao Centro de Assessoria de Publicação Acadêmica, CAPA - www.capa.ufpr.br, da Universidade Federal do Paraná, pela assistência na edição de língua inglesa.

Declaração de conflito de interesse

Todos os autores declaram que não há conflitos de interesse.

Referências

Aleksandrowicz, L., Green, R., Joy, E. J. M., Smith, P. & Haines, A. (2016). The impacts of dietary change on greenhouse gas emissions, land use, water use, and health: A Systematic Review. *PLOS ONE*, 11 (11), e0165797. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165797>.

Alsmeyer, R. H., Cunningham, A. E. & Happich, M. L. (1974). Equations predict PER from amino acid analysis. *Food Technology*, 28, 34–38.

AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. (18th ed.). Association of Official Analysis Chemists International Washington, D. C., 2590 p. ISBN-10 093558482X ISBN-13 978-0935584820.

Ayalew, Y., Retta, N., Desse, G., Mohammed, A. & Mellesse, A. (2017). Amino acid profile and protein quality in tuber and leaf of *Cocconia abyssinica* (Lam.) (Cogn.) accessions of Ethiopia. *Food Science & Nutrition*, 5, 722–729. <https://doi.org/10.1002/fsn3.452>.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (2), 446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.

Bharucha, Z. & Pretty, J. (2010). The roles and values of wild foods in agricultural systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 365 (1554), 2913–26. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0123>.

Brazil. (2012). Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 54, de 12 de novembro de 2012. Provides technical regulation regarding complementary nutrition information. Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil. Retrieved from http://portal.anvisa.gov.br/documents/%2033880/2568070/rdc0054_12_11_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864.

Brazil. (2014). Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira. 2. ed. Brasília : Ministério da Saúde, 156 p. ISBN 978-85-334-2176-9. Retrieved from http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf.

Castrillo, M., Vizcaíno, D., Moreno, E. & Latorraca, Z. (2005). Specific leaf mass, fresh: dry weight ratio, sugar and protein contents in species of Lamiaceae from different light environments. *Revista de Biología Tropical*, 53 (1–2), 23–28. Retrieved from

http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442005000100004.

FAO/WHO/UNU Expert Consultation on Energy and Protein Requirements. (1981). The use of biological value of a protein in evaluating its quality for human requirements. Rome, 5 to 17 October 1981. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/meeting/004/m2835e/m2835e00.htm>.

FAO. (1998). Carbohydrates in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Paper No. 66. Rome. ISBN: 92 5 104114 8.

FAO. (2013). Dietary protein quality evaluation in human nutrition. Report of an FAO Expert Consultation, Auckland, New Zealand, paper 92. ISBN 978-92-5-107417-6.

Fonseca-Azevedo, K. & Herculano-Houzel, S. (2012). Metabolic constraint imposes tradeoff between body size and number of brain neurons in human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 109 (45), 18571–18576. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206390109>.

Fuller, S., Tapsell, L. C. & Beck, E. J. (2018). Creation of a fibre categories database to quantify different dietary fibres. *Journal of Food Composition and Analysis*, 71 (2018), 36-43. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.05.004>.

Hagen, S. R., Frost, B. & Augustin, J. (1989). Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino acids in food. *Journal of The Association of Official Analytical Chemists*, 72 (6), 912-916.

Hartmann, C. & Siegrist, M. (2017). Consumer perception and behaviour regarding sustainable protein consumption: A systematic review. *Trends in Food Science and Technology*, 61, 11–25. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.006>.

Institute of Medicine. (2005a). Dietary Carbohydrates: Sugars and Starches. In: *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*. Report. <https://doi.org/10.17226/10490>.

Institute of Medicine. (2005b). *Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate*. Washinton: The Natinal Ademies Press, 640 p. ISBN 0309530490.

Kinupp, V. F. & Lorenzi, H. (2014). *Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas*. (1th ed.). São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 768 p. ISBN 9788586714467.

Lucas, B. & Sotelo, A. (1980). Effect of different alkalies, temperature, and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of foods. *Analytical Biochemistry*, 109 (1), 192–197. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(80\)90028-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(80)90028-7).

McDonough, A. A. & Youn, J. H. (2017). Potassium Homeostasis: The Knowns, the Unknowns, and the Health Benefits. *Physiology*, 32 (2), 100-111. <https://doi.org/10.1152/physiol.00022.2016>.

Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., Mcclements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S., Weitschies, W. & Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, 5 (6), 1113–1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>.

Mlitan, A. M., Sasi, M. S. & Alkherraz, A. M. (2014). Proximate and Minor Mineral Content in Some Selected Basil Leaves of *Ocimum gratissimum* L, in Libya. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5 (6), 502–505. <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.436>.

Monro, J. A. & Mishra, S. (2010). Database values for food-based dietary control of glycaemia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (5), 406-410. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.02.001>.

Morup, I. K. & Olesen, E. S. (1976). New method for prediction of protein value from essential amino acid pattern. *Nutritional Report International*, 13, 355–365.

Mune, M. A. M., Nyobe, E. C., Bassogog, C. B. & Minka, S. R. (2016). A comparison on the nutritional quality of proteins from *Moringa oleifera* leaves and seeds. *Cogent Food & Agriculture*, 2 (1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1213618>.

Nelson, D. L. & Cox, M. M. (2014). *Princípios de bioquímica de Lehninger*. (6th ed.). Artmed, 1328 p. ISBN 9788582710722.

Nurzyńska-Wierdak, R. (2015). Protein nutritional value of rocket leaves and possibilities of its modification during plant growth. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39 (6), 1023–1028. <https://doi.org/10.3906/tar-1412-6>.

Osborne, D. R. & Voogt, P. (1978). *The analysis of nutrient in foods*. London; New York: Academic Press, vii, 251 p, INSB 0125291507.

Palego, L., Betti, L., Rossi, A. & Giannaccini, G. (2016). Tryptophan Biochemistry: Structural, Nutritional, Metabolic, and Medical Aspects in Humans. *Journal of Amino Acids*, 2016, 1–13. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8952520>.

Rehm, S. & Espig, G. (1991). *The cultivated plants of the tropics and subtropics, cultivation, economic value, utilization*. Margraf Verlag, Weikersheim, Germany, viii, 522 p. ISBN: 3823611690.

Silva, L. F. L., Souza, D. C., Resende, L. V., Nassur, R. C. M. R., Samartini, C. Q. & Gonçalves, W. M. (2018). Nutritional Evaluation of Non-Conventional Vegetables in Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170509>.

Toledo, A. & Burlingame, B. (2006). Biodiversity and nutrition: A common path toward global food security and sustainable development. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (6–7), 477–483. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.05.001>.

Trennepohl, B. I. (2016). Caracterização físico-química, atividade antioxidante e atividades biológicas da espécie *Pereskia aculeata* Mill (Thesis). Retrieved from <http://hdl.handle.net/1884/47922>.

Tunçtürk, M., Eryiğit, T. & Kaya, A. R. (2017). Nutritional properties, minerals, and selected heavy metal contents in herby cheese plants of Lamiaceae. *Applied Biological Chemistry*, 60 (1), 41–47. <https://doi.org/10.1007/s13765-016-0245-9>.

USDA. (2015). 2015–2020 Dietary Guidelines for Americans. <http://health.gov/dietaryguidelines/2015/guidelines/>. Accessed 05 August 2017.

USDA. (2016). USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release 28. *National Nutrient Database for Standard Reference*. Retrieved from <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=8964>.

Whelton, P. K. (2018). Sodium and Potassium Intake in US Adults. *Circulation*, 137, 247–249. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031371>.

White, J. A., Hart, R. J. & Fry, J. C. (1986). An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *Journal of Automatic Chemistry*, 8 (4), 170–177. <https://doi.org/10.1155/S1463924686000330>.

WHO, 2003 WHO. (2003). Food based dietary guidelines in the WHO European Region. Copenhagen, Denmark. http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0017/150083/E79832.pdf Accessed 12 January 2018.

WHO. (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Tables 49 and 50, pages 245-246. WHO technical report series, n 935, Geneva, 276 p, IBNS-10 9241209356, IBNS-13 9789241209359.

Zengin, G., Aktumsek, A., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., Girón-Calle, J., Alaiz, M. & Vioque, J. (2012). Nutritional quality of protein in the leaves of eleven *Asphodeline*

species (*Liliaceae*) from Turkey. *Food Chemistry*, 135 (3), 1360–1364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.084>.

Zhao, H., Yu, C. & Li, M. (2017). Effects of geographical origin, variety, season and their interactions on minerals in tea for traceability. *Journal of Food Composition and Analysis*, 63 (2017), 15-20. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.07.030>.

CAPÍTULO 3: ARTIGO 2

O presente artigo foi redigido conforme as normas da revista Journal of Ethnopharmacology.

Potencial antioxidante, atividade antimicrobiana e avaliação da toxicidade preliminar do extrato das folhas de *Stachys byzantina* K. Koch

Thaise Duda de AZEVEDO^a, Marlene BAMPI^a, Márcia Regina BEUX^b, Sila Mary Rodrigues FERREIRA^b, Christiane QUEIROZ^b, Francis José Zortéa MERINO^c, Claudia Carneiro Hecke KRÜGER^{b*}

^a*Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico, 80210-170 Curitiba, Paraná, Brasil.*

^b*Departamento de Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico, 80210-170 Curitiba, Paraná, Brasil.*

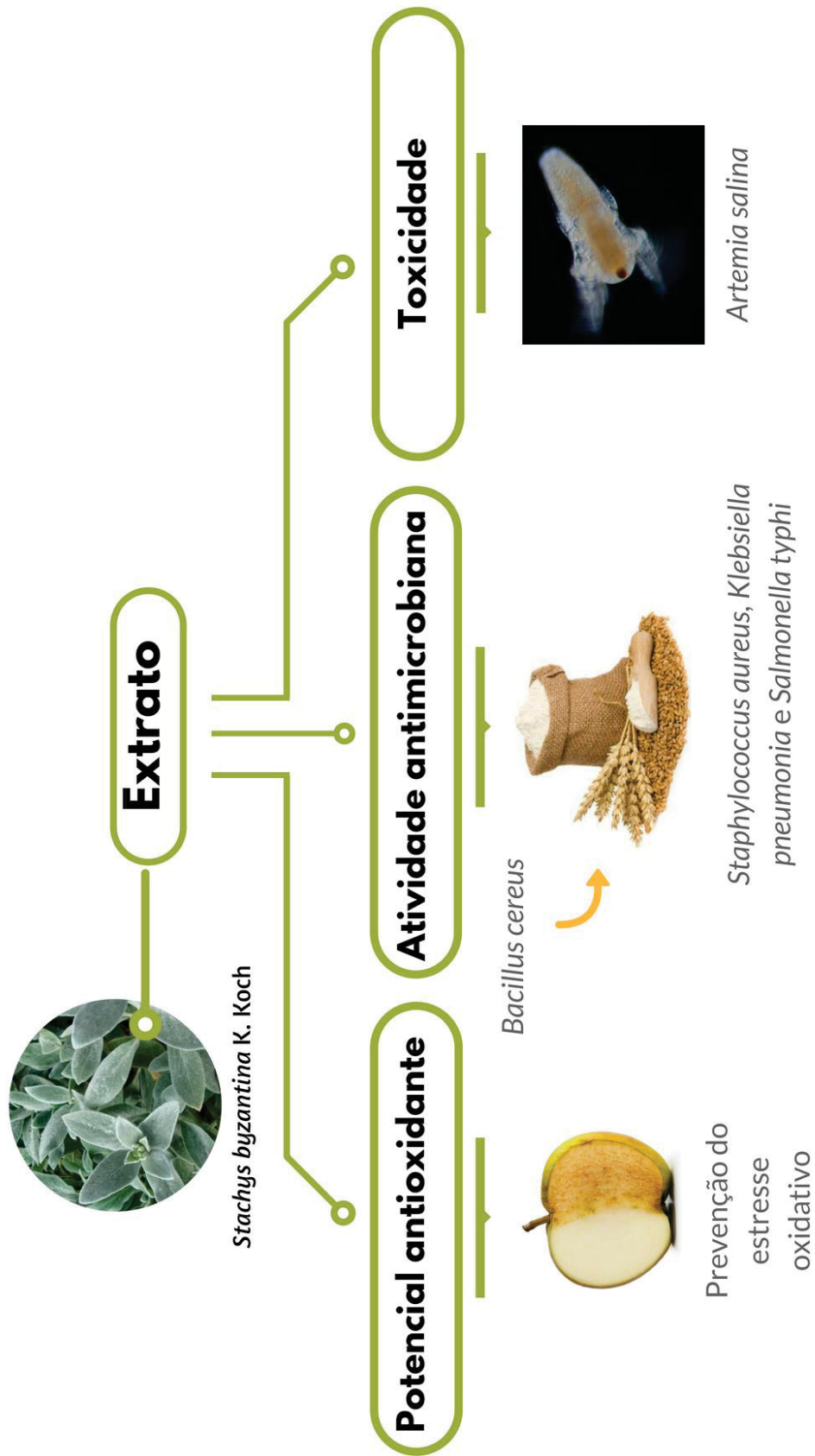
^c*Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico, 80210-170 Curitiba, Paraná, Brasil.*

*Corresponding author: Claudia Carneiro Hecke Krüger. Tel.: +55 41 33604017. E-mail: [cchecke@ufpr.br](mailto:checke@ufpr.br).

Resumo

Relevância etnofarmacológica: A espécie *S. byzantina* K. Koch, conhecida popularmente como “peixinho da horta”, é uma planta alimentícia comumente utilizada na medicina popular tradicional para o tratamento de enfermidades pulmonares. No entanto, pouco foi estudado e documentado a respeito dessa espécie. **Objetivo do estudo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antioxidante do extrato das folhas de *S. byzantina*, sua atividade antimicrobiana contra bactérias contaminantes na indústria de alimentos, e sua toxicidade preliminar. **Material e métodos:** A determinação dos fenólicos totais foi realizada utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. O potencial antioxidante foi obtido pela determinação da capacidade sequestrante dos radicais livres DPPH e ABTS, e também pela formação do complexo fosfomolibdênio. A determinação do teor de ácido ascórbico foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Atividade antimicrobiana foi avaliada pela concentração inibitória mínima por microdiluição. A toxicidade foi observada por meio do bioensaio com a *Artemia salina*. **Resultados:** O extrato apresentou teor de fenólicos totais de 438,92 µg em equivalente de ácido gálico/g de peso seco. Foi encontrado expressivo efeito antioxidante em relação aos ensaios de DPPH (EC₅₀ 30,50 µg/mL) e ABTS (214,05 µM equivalente de Trolox/g peso seco). O potencial antioxidante total foi semelhante ao da rutina. A concentração de vitamina C foi de 7,08 mg/100 g nas folhas frescas. O extrato inibiu o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typhi*. Foi encontrado LC₅₀ maior que 1000 ppm para o ensaio com a *Artemia salina*, o que sugere ausência de toxicidade. **Conclusão:** O extrato constitui um aditivo natural promissor para ampliação da vida de prateleira de produtos alimentícios.

Palavras-chave: Lamiaceae; Potencial antioxidante; Atividade antimicrobiana; *Artemia salina*.



1 Introdução

A oxidação do alimento, assim como o crescimento de micro-organismos patogênicos e deteriorantes, são fatores que têm grande impacto na vida útil de um produto alimentício. O processo químico oxidativo, nesse caso acontece especialmente pelo dano causado pela formação de radicais livres ao interagir com componentes da matriz celular do produto (Shingnaisuia et al., 2018). A oxidação do alimento durante o armazenamento pode provocar a formação de sabores, cores e aromas indesejáveis, depleção de compostos bioativos como (ácidos graxos poli-insaturados, α -tocoferol, carotenoides e fitosteróis), e, ainda, pode ocorrer a formação de compostos genotóxicos e citotóxicos como produtos finais da oxidação lipídica (Kanner, 2007).

Dessa forma, a adição de antioxidantes faz com que o alimento esteja próprio para o consumo por um período de tempo prolongado, uma vez que esses componentes se ligam aos radicais livres evitando a lesão celular. Os antioxidantes mais utilizados na indústria de alimentos são o hidroxitolueno butilado (BHT) e o 2,3-terc-butil-4-hidroxianisol (BHA), que são de origem sintética. Uma expressiva parcela dos consumidores vem buscando por alimentos livres de aditivos artificiais. Além disso, tem sido observada relação entre o consumo desses antioxidantes e o desenvolvimento de alergias, dores de cabeça e dermatites (Bondi et al., 2017). Por isso, há uma atual tendência do uso de antioxidantes naturais no processamento de alimentos. Na literatura, há registro do uso com sucesso de extrato de vegetais folhosos como antioxidante em produtos como carnes (Al-Rimawiet al., 2017), óleos (Afshari & Sayyed-Alangi, 2017) e vegetais minimamente processados (Adeogun et al., 2017).

Outra preocupação da indústria de alimentos é o retardo da degradação do produto causada pela propagação microbiana. Além disso, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (2017), doenças de origem microbiana transmitidas por alimentos (DTA) causam cerca de 230.000 mortes por ano e afetam particularmente crianças, idosos e enfermos. Sendo assim, a fim de evitar a deterioração do produto e surtos de TDAs, a utilização de aditivos antimicrobianos a produtos alimentícios é comum. Em consonância com a tendência contemporânea de substituição de aditivos de origem sintética por naturais, pesquisadores têm se dedicado ao estudo da atividade antimicrobiana de diversos extratos de plantas na

preservação de produtos alimentícios, como bebidas (Antolak et al., 2017), carnes (Hoque et al., 2008) e massas (Rosyid et al., 2011).

Além disso, um terceiro fator relevante à utilização de extratos vegetais como aditivos alimentares é a sua toxicidade. A baixa toxicidade pode ser considerada uma característica importante para o uso de desses extratos na indústria de alimentos. De acordo com a literatura científica, extratos de plantas de espécies da família botânica Lamiaceae têm apresentado expressivo efeito antioxidante e antimicrobiano (Albayrak et al., 2013, Gómez-Rivera et al., 2018, Mekinich et al., 2014).

A espécie *S. byzantina* K. Koch, conhecida popularmente como peixinho da horta, é comumente utilizada na medicina popular para o tratamento de enfermidades pulmonares (Kinupp & Lorenzi, 2014). Compostos bioativos identificados nas folhas são 2'-O-arabinosil verbascosídeo, verbascosídeo, aeschynantosídeo C, apigenina 7-O-glucosídeo, apigenina 7-O-(6-p-coumaroil)-glucosídeo e apigenina (Asnaashari et al. 2010). No entanto, pouco foi estudado e documentado a respeito dessa espécie. Portanto, mais pesquisas sobre as propriedades funcionais das folhas são de grande importância. A fim de preencher esta lacuna, o objetivo deste trabalho é avaliar o potencial antioxidante do extrato de folhas de *S. byzantina*, sua atividade antimicrobiana em bactérias de significativa preocupação na indústria de alimentos e também sua toxicidade preliminar.

2 Material e métodos

2.1 Reagentes, padrões e microorganismos

Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) (Merck®, Darmstadt, Alemanha), cistos de *Artemia salina* (Maramar®, Arraial do Cabo, Brasil). Os padrões e os reagentes Folin-Ciocalteu, DPPH e ABTS foram obtidos da Sigma-Aldrich® (St. Louis, EUA). Os microrganismos utilizados para este estudo [American Type Culture Collection® (ATCC), Rockville, USA] foram cepas padrão das bactérias gram-positivas *Bacillus cereus* (ATCC 11778) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), as bactérias gram-negativas *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883) e *Salmonella typhi* (ATCC 14028), e a levedura *Candida albicans* (ATCC 10231). Os outros produtos químicos e reagentes eram de grau analítico ou cromatográfico.

2.1 Preparo da amostra

Folhas de *S. byzantina* foram coletadas de três diferentes localizações na região metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil (25,3824606 S, 49,1270613 W, 912 m; 25,2965213 S 49,4353102 W, 872 m; 25,3075581 S, 49,2013473 W, 1000 m), higienizadas, liofilizadas, moídas e armazenadas a -20 °C em sacos de plástico selados. A espécie foi botanicamente identificada e exsicata foi depositada no Herbário UPCB, no Departamento de Biologia da Universidade Federal do Paraná, Brasil (número de identificação: 92772). A autorização de acesso à planta para pesquisa científica foi emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (número de registro: AB634FD).

A extração assistida por ultrassom foi realizada para a preparação do extrato bruto. Para isso, 1 g de folhas liofilizadas foi misturado com 10 mL de metanol 50 % e 10 mL de acetona 70 %, e homogeneizada. Após a homogeneização, a suspensão foi levada ao Sonicador (Kondentech® CD-4860, São Carlos, Brasil), onde permaneceu por 30 minutos. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 15 minutos a 5000 rpm e a temperatura ambiente. O sobrenadante foi separado do precipitado e reservado. Uma mistura contendo metanol 50 % e acetona 70 % foi adicionada ao precipitado e o procedimento de mistura, sonicação, centrifugação e separação entre o sobrenadante e o precipitado foi repetido. A amostra foi submetida ao processo de extração por quatro vezes e os sobrenadantes foram combinados em um único frasco. Em seguida, a solução com os sobrenadantes foi evaporada em banho-maria a 42 °C, resfriada à temperatura ambiente, e acondicionada sob refrigeração e protegida da luz.

2.1 Determinação de fenólicos totais

A determinação dos fenólicos totais foi realizada utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu conforme descrito por Singleton & Rossi (1965), que consistiu na mistura de 1,4 mL de água destilada, 200 µL do extrato a 1 mg/mL, 100 µL do reagente Folin-Ciocalteu e 300 µL de carbonato de sódio a 20 % em tubos de ensaio. As amostras foram homogeneizadas e incubadas em banho-maria a 40 °C por 30 min. Em seguida, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente e a absorbância foi medida no comprimento de onda de 765 nm com espectrofotômetro (Shimadzu®).

UV-1800, Kyoto, Japão). Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico/g de peso seco).

2.2 Determinação do potencial antioxidante

2.2.1 Capacidade de sequestro do radical livre DPPH

A capacidade de sequestrante do radical livre DPPH foi determinada de acordo com Mensor et al. (2001) em microescala. Resumidamente, 57 µL da solução de DPPH a 0,3 mM foi adicionada a um poço na microplaca ELISA de 96 poços, juntamente com 143 µL das amostras com concentrações de 40, 30, 20, 10 e 5 mg/mL de extrato de folhas de *S. byzantina* ressuspendido em etanol. As amostras foram incubadas na ausência da luz e à temperatura ambiente por 30 min. A absorvância foi medida a 540 nm em fotômetro de microplaca (Multiskan®, Vantaa, Finlândia). Utilizou-se etanol (200 µL) como branco. Solução de DPPH (57 µL) mais etanol (143 µL) foi utilizada como controle negativo. Os resultados foram expressos como a concentração de antioxidantes necessária para reduzir a quantidade original de radicais livres em 50 % (EC₅₀).

2.2.1 Capacidade de sequestro do radical livre ABTS

A atividade antioxidante do extrato de folhas de *S. byzantina* na reação com radical ABTS foi determinada de acordo com Nenadis et al. (2004). O radical ABTS foi formado por meio da reação entre uma solução de ABTS 7 mM com uma suspensão de potássio 140 nM, a qual foi incubada a 25 °C na ausência de luz por 12 h. Em seguida, o radical foi diluído com metanol até um valor de absorvância de 0,700 nm. A partir do extrato, três diluições diferentes (2, 3 e 7 mg/mL), nas quais o extrato foi ressuspendido em metanol. Uma alíquota de 30 µl de cada diluição foi transferida para tubos de ensaio com 3,0 mL de radical ABTS. A absorvância foi medida em um comprimento de onda de 734 nm com uso de espectrofotômetro (Shimadzu® UV-1800, Kyoto, Japão) após 6 minutos de reação na ausência de luz. O metanol foi utilizado como um branco. A capacidade de sequestro do radical ABTS do extrato foi calculada de acordo com a curva padrão com Trolox e os resultados foram expressos como equivalentes µM de Trolox por grama de peso seco.

2.3.3 Capacidade antioxidante total (formação do complexo fosfomolibdênio)

A atividade antioxidante do extrato de folhas de *S. byzantina* foi determinada pelo método do fosfomolibdênio descrito por Prieto et al. (1999), no qual uma alíquota de 300 µL do extrato (200 µg/mL em água destilada) foi misturada com 0,28 mL de fosfato de sódio 0,1 M, 0,12 mL de molibdato de amônio 0,03 M, 0,2 mL de ácido sulfúrico 3 M e 1,5 mL de água destilada. Os tubos foram tampados e incubados em banho-maria a 95 °C por 90 min. As amostras foram resfriadas à temperatura ambiente e, em seguida, uma alíquota de 300 µL de cada uma foi transferida para uma microplaca ELISA de 96 poços e a absorbância foi medida a 695 nm em fotômetro de microplaca (Multiskan®, Vantaa, Finlândia). Para o branco, 300 µL de metanol foi utilizado em substituição à amostra. A atividade antioxidante foi calculada em relação às soluções padrão de ácido ascórbico, hidroxitolueno butilado (BHT) e rutina, nas quais as atividades antioxidantes foram consideradas como 100 %, de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Atividade antioxidante do extrato em relação ao ácido ascórbico} = [(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / (A_{\text{aa}} - A_{\text{branco}})] \times 100$$

$$\text{Atividade antioxidante do extrato em relação ao BHT} = [(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / (A_{\text{BHT}} - A_{\text{branco}})] \times 100$$

$$\text{Atividade antioxidante do extrato em relação à rutina} = [(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / (A_{\text{rutina}} - A_{\text{branco}})] \times 100$$

No qual, A_{amostra} refere-se à absorbância com o composto de teste, A_{branco} refere-se à absorbância do branco, A_{aa} refere-se à absorbância com o padrão de ácido ascórbico, A_{BHT} refere-se à absorbância com o padrão BHT e A_{rutina} refere-se à absorbância com o padrão de rutina.

2.4 Determinação de vitamina C

A determinação da vitamina C foi realizada conforme descrito por Paulo et al. (1999), com pequenas modificações. Para a extração da vitamina, 0,1 g da amostra

lioofilizada foi diluída em 900 µL de tampão fosfato de potássio 2 %. A solução foi centrifugada a 10000 rpm durante 5 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi separado e filtrado com filtro de seringa de poro com 0,22 µm. A quantificação do teor de ácido ascórbico foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando cromatógrafo (Varian® Star 350, Walnut Creek, Canadá), coluna de fase reversa C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), tampão fosfato de potássio 2 % como fase móvel e pH 2,32. O fluxo foi de 0,4 ml/min, o tempo de execução foi de 20 minutos e a absorbância foi registrada no comprimento de onda de 254 nm. O ácido ascórbico (Sigma-Aldrich®, Saint Louis, EUA) foi utilizado para a preparação da curva de calibração.

2.5 Atividade antimicrobiana

As suspensões bacterianas e fúngica foram obtidas de colônias preparadas em ágar e incubadas por 24 horas, as quais foram transferidas para soluções salinas 0,9 % e comparadas com a escala 0,5 de Mc Farland.

O extrato seco foi diluído em água destilada estéril nas seguintes concentrações seriadas: 80 mg/mL, 40 mg/mL, 20 mg/mL, 10 mg/mL, 5 mg/mL, 2,5 mg/mL, 1,25 mg/mL e 0,625 mg/mL. A análise da atividade antimicrobiana foi conduzida de acordo com o método de identificação da concentração inibitória mínima por microdiluição na microplaca Elisa de 96 poços em "U". Em cada poço, foram pipetados 50 µL de caldo Mueller-Hinton, 50 µL de extrato e 20 µL de inóculo. As microplacas foram incubadas a 35 °C por 22 h. Em seguida, foram adicionados 20 µL da solução indicadora TTC (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio) a 0,134 % em cada poço e as microplacas foram incubadas por mais 2 horas. Foi realizada leitura visual (Appelt et al., 2017).

2.6 Teste de letalidade da *Artemia salina*

O procedimento para o bioensaio com a *Artemia salina* seguiu o método desenvolvido por Meyer et al. (1982) com pequenas modificações. Os cistos de *A. salina* foram incubados a 27-30 °C, pH 8-9 e sob constante iluminação por 48 h em água do mar artificial (0,5 mg de sal marinho/mL de água destilada). Após a eclosão dos cistos, 10 náuplios livres foram transferidos para água do mar artificial em

eppendorf, com três diferentes concentrações do extrato das folhas de *S. byzantina*: 10, 100 e 1000 ppm. Sulfato de quinidina foi utilizado como controle positivo e água do mar artificial como controle negativo. Os náuplios foram incubados por 24 horas. Após esse período de contato com o extrato, os náuplios sobreviventes foram contados. Os dados foram expressos como LC₅₀ (concentração letal média) e porcentagem de mortalidade. O extrato foi considerado tóxico quando o LC₅₀ foi inferior a 1000 ppm. Resultados próximos a 100 % da porcentagem de mortalidade foram interpretados como alta toxicidade, enquanto 0 % da porcentagem de mortalidade não infere toxicidade.

2.7 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão (DP), determinados em triplicata. ANOVA unidirecional e teste *post hoc* de Tukey foram realizados no software IBM® SPSS Statistics versão 22.0 (Armonk, NY, EUA) para acessar as diferenças entre as médias obtidas no ensaio da atividade antioxidante total. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Dados sobre letalidade dos náuplios de *Artemia salina* foram analisados pelo teste de Próbitos (Finney, 1949) e expressos como LC₅₀ (concentração letal média) e porcentagem de mortalidade.

3 Resultados e discussão

3.1 Atividade antioxidante, fenólicos totais e vitamina C

Neste estudo, o potencial antioxidante do extrato de folhas de *S. byzantina* foi determinado pelos métodos DPPH, ABTS e Fosfomolibdênio, que são ensaios laboratoriais comumente utilizados para avaliar a capacidade antioxidante de alimentos e aditivos alimentares. A vitamina C também foi medida, reconhecendo seu papel como agente antioxidante. Os resultados das análises estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1

Fenólicos totais, potencial antioxidante e teor de vitamina C no extrato das folhas de *S. byzantina*.

Analises	Resultados
Fenólicos totais (μg de EAG/g peso seco)	$438,92 \pm 18,77$
DPPH (EC_{50} - $\mu\text{g/mL}$)	$30,50 \pm 3,48$
ABTS (μM ET/g peso seco do extrato)	$214,05 \pm 10,34$
Vitamina C (mg EAA/100 g folhas frescas)	$7,08 \pm 0,40$
Comparação da capacidade antioxidante total (%)	
Ácido ascórbico	$23,97 \pm 1,21$
BHT	$59,35 \pm 7,05$
Rutina	$74,98 \pm 6,49$

Os valores são as medias \pm DP das triplicatas.

O potencial antioxidante do extrato de folhas de *S. byzantina*, baseado no ensaio do sequestro do radical DPPH, identifica a capacidade dos componentes do extrato de doar hidrogênio ao radical livre de cor púrpura 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), que é reduzido ao difenil-picrilidrazina (DPPH-H), de cor amarelada (Gülçin, 2012). Neste estudo, o resultado foi expresso em termos de EC_{50} , que é a concentração do extrato capaz de causar 50 % do efeito antioxidante máximo. Quanto menor o valor de EC_{50} , maior é o efeito antioxidante do extrato.

O resultado indicou forte atividade sequestrante do radical DPPH ($30,19 \pm 3,44 \mu\text{g/mL}$; Equação: $y = 1,1636x + 14,872$; $R^2 = 0,9918$), que atingiu o ponto de saturação na concentração de $60 \mu\text{g/mL}$ do extrato. O valor de EC_{50} para o extrato de folhas de *S. byzantina* foi inferior ao observado no extrato de variedades de frutas de *Pistacia atlantica* (76 a $1840 \mu\text{g/mL}$) (Hatamnia et al., 2014), nos cogumelos *Lentinula edodes* ($9800 \mu\text{g/mL}$) e *Agaricus campestris* ($1400 \mu\text{g/mL}$) (Woldegiorgis et al., 2014) e nas folhas de *Ipomoea batatas* (190 a $410 \mu\text{g/mL}$) (Liao et al., 2011).

O ensaio laboratorial do sequestro do radical ABTS estima o potencial antioxidante de um composto por meio do decaimento da cor verde-azulada da solução ABTS (ácido 2,2-azino-bis 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico). Os valores foram expressos em equivalentes de trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), um análogo hidrossolúvel da vitamina E (Gülçin, 2012). No presente estudo, o resultado do extrato de folhas de *S. byzantina* para o ensaio ABTS ($214,05$

$\pm 10,34 \mu\text{M ET/g}$ peso seco; Equação: $y = -0,00007x + 0,6509$; $R^2 = 0,9599$) foi semelhante ao encontrado em mirtilos brasileiros (*Vaccinium corymbosum* L. e *Vaccinium ashei* R.) que variaram de 40,3 a 260,8 $\mu\text{M ET/g}$ peso seco (Pertuzatti et al., 2014). Esses frutos possuem notoriedade por suas propriedades funcionais relacionadas ao potencial antioxidante.

O ensaio da capacidade antioxidante total é um teste baseado na redução do fosfato-molibdênio (VI) em fosfato-molibdênio (V) por um agente antioxidante, e subsequente formação de um complexo fosfato-molibdênio verde em pH ácido (Prieto et al., 1999). Neste estudo, a capacidade do extrato de folhas de *S. byzantina* para gerar o complexo fosfomolibdênio foi comparada com o BHT, rutina e ácido ascórbico, como apresentado na Tabela 1.

A principal aplicação do composto BHT (um componente sintético) é na conservação de alimentos por inibindo a oxidação. Os achados deste estudo sugerem que o BHT pode ser efetivamente substituído pelo extrato de folhas de *S. byzantina*, que exibiu cerca de 60 % do potencial antioxidante do BHT.

Além disso, o potencial antioxidante do extrato de folhas de *S. byzantina* foi próximo ao da rutina, um composto natural derivado da flavona, comumente encontrado em frutas e vegetais, que tem reconhecida função promotora da saúde, relacionada ao seu potencial antioxidante (Guo et al., 2007).

Estudos sugerem que a vitamina C (ácido L-ascórbico) pode se comportar como sequestrante de radicais livres hidrossolúvel, quando em elevada concentração. Portanto, pode se comportar como um agente antioxidante (Mandl et al., 2009). O teor de vitamina C encontrado em folhas de *S. byzantina* ($7,08 \pm 0,40 \text{ mg EAA/100 g}$ de folhas frescas) possivelmente não é alto o suficiente para atuar como um fator importante na promoção do potencial antioxidante do extrato. A inibição da oxidação promovida pelo extrato testado é provavelmente devida ao potencial antioxidante dos compostos fenólicos, cuja concentração foi elevada.

Em plantas, compostos fenólicos, ou polifenóis, são substâncias envolvidas em reações metabólicas originadas com o propósito de gerar tropismo, resposta a sinais de mudanças ambientais ou defesa contra patógenos (Abbasi et al., 2015). Os teores de fenólicos totais presentes no extrato das folhas de *S. byzantina* estão apresentados na Tabela 1 ($438,92 \pm 18,77 \mu\text{g}$ de EAG/g peso seco; Equação: $y = 0,0074x + 0,0012$; $R^2 = 0,9645$). O interesse na aplicação de compostos fenólicos na indústria alimentícia tem aumentado, principalmente porque estudos científicos têm

mostrado uma correlação positiva entre a presença desses compostos e o efeito antioxidante dos aditivos naturais (Altunkaya et al., 2009).

3.3 Atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato das folhas de *S. byzantina* se deu pela identificação da concentração mínima do extrato suficiente para inibir o crescimento das bactérias estudadas, que pode ser identificada visualmente (Appelt et al., 2017) e estão apresentados na Tabela 2.

O extrato das folhas de *S. byzantina* mostrou amplo espectro inibitório contra bactérias contaminantes na indústria de alimentos. Tanto gram-positivas quanto gram-negativas foram afetadas. Uma variedade de mecanismos pode estar envolvida na atividade antimicrobiana da amostra, pois um extrato vegetal consiste em uma mistura complexa de compostos bioativos, como fenólicos, quinonas, taninos, cumarinas, terpenóides, alcalóides, lecitinas, polipeptídeos, poliaminas, isotiocianatos, tiosulfatos e glicosídeos, que podem inibir o crescimento ou multiplicação bacteriana (Cowan, 1999). Essa ação multivariada possivelmente dificulta a adaptabilidade das bactérias, o que pode diminuir o desenvolvimento de resistência bacteriana ao extrato. Diferente do caso da maioria dos agentes antimicrobianos sintéticos nos quais a ação antimicrobiana geralmente não é multifatorial (Frost et al., 2018).

Tabela 2

Concentração inibitória mínima (CIM) do extrato das folhas de *S. byzantina*.

Microorganismos	CIM (mg/mL)
<i>Bacillus cereus</i>	20
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sem atividade
<i>Escherichia coli</i>	Sem atividade
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
<i>Salmonella typhi</i>	40
<i>Staphylococcus aureus</i>	10
<i>Candida albicans</i>	Sem atividade

As análises foram conduzidas em triplicata. Cetoconazol (500 µg/mL) e clorofenicol (100 µg/ml) foram utilizados como controle positivo.

A atividade inibitória mínima do extrato foi maior contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, seguida por *Bacillus cereus* e *Klebsiella pneumoniae*, o que está de acordo com os resultados relatados por Saeedi et al. (2008) e diferem dos resultados relatados por Jassbi et al. (2013), que encontraram atividade inibitória mínima do extrato igual contra as três bactérias.

As coletas das amostras utilizadas por Saeedi et al. (2008) e Jassbi et al. (2013) foram realizadas no Irã, no estágio de floração das plantas, e a preparação da amostra envolveu etapas de secagem ao ar, seguida da extração com metanol. Nesta pesquisa, a coleta de amostras foi realizada no sul do Brasil, no estágio vegetativo das plantas, e o preparo das amostras envolveu etapas de liofilização e extração com metanol e acetona assistida por ultrassom. Esses fatores afetam os resultados relativos às CIMs, embora partes aéreas da mesma espécie tenham sido utilizadas.

No presente estudo, a atividade antimicrobiana do extrato contra *K. pneumoniae* (CIM de 20 mg/mL) foi superior à relatada por Saeedi et al. (2008) (CIM de 40 mg/mL) e inferior ao encontrado por Jassbi et al. (2013) (MIC de 5 mg/mL). Os resultados com relação à atividade antimicrobiana contra *S. aureus* (CIM de 10 mg/mL) foram semelhantes aos de Saeedi et al. (2008) e inferiores aos de Jassbi et al. (2013) (5 mg/mL MIC).

O presente estudo não encontrou atividade antimicrobiana contra *E. coli*; no entanto, esta atividade no extrato de folhas de *S. byzantina* foi relatada por Jassbi et al. (2013) (CIM de 2,5 mg/mL) e Saeedi et al. (2008) (CIM de 25 mg/mL). A atividade antimicrobiana contra *S. typhi* foi menor que a encontrada por Jassbi et al. (2013) (MIC de 2,5 mg/mL). A atividade antimicrobiana contra *C. albicans* não foi identificada no extrato das folhas de *S. byzantina*. Portanto, é interessante o uso concomitante do extrato testado e de outros aditivos naturais ou processos industriais que possam atuar sinergicamente para melhorar a inibição da proliferação da *E. coli* e de fungos.

Até onde é de conhecimento dos autores, a concentração inibitória mínima do extrato das folhas de *S. byzantina* contra *B. cereus* e *E. aerogenes* são relatadas pela primeira vez neste estudo. A inibição no crescimento de *B. cereus* pode fazer dos extratos especialmente adequados para uso como aditivo antimicrobiano em cereais e produtos de panificação (Bondi et al., 2017).

Os compostos fenólicos presentes na amostra testada parecem contribuir para a atividade antimicrobiana encontrada no extrato das folhas (Moreno et al., 2006). A atividade do extrato contra os microrganismos testados forneceu informações

promissoras sobre seu uso potencial no desenvolvimento de novos e eficazes agentes antibacterianos de origem natural particularmente eficientes para a conservação de produtos alimentícios.

3.4 Toxicidade

O ensaio laboratorial com a *A. salina* tem sido tradicionalmente utilizado no campo farmacêutico como avaliação de primeira linha, simples e barata da toxicidade geral em extratos de plantas. *A. salina* é o modelo *in vivo* preferido devido à alta sensibilidade dos náuplios a substâncias tóxicas presentes no ambiente ao qual está exposto (Ohikhena et al., 2016).

O extrato das folhas de *S. byzantina* mostrou LC₅₀ superior a 1000 ppm para todas as diferentes concentrações testadas. Além disso, a taxa de mortalidade foi de 0 % para todas as concentrações de extrato. Os achados deste estudo sugerem ausência de toxicidade nas amostras. De forma similar, um estudo anterior não relatou nenhuma citotoxicidade produzida pelo extrato das folhas de *S. byzantina* feito com 80 % de metanol (Jassbi et al., 2013).

4 Conclusão

Em conclusão, as folhas de *S. byzantina* mostram um considerável teor de fenólicos totais. O extrato apresenta intensa atividade sequestrante de radicais DPPH, bem como, de radicais ABTS. Além disso, a capacidade antioxidante total baseada na formação do complexo fosfomolibdênio é similar àquela encontrada na rutina. A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato indicou inibição no crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typhi*. Não apresentou efeito sobre *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Não foi observada toxicidade no extrato por meio do teste com a *A. salina*. Portanto, o extrato de folhas de *S. byzantina* apresenta um efeito antioxidante e antimicrobiano substancial e constitui um aditivo natural promissor para aumento tempo de prateleira de produtos alimentícios, que satisfaz a preferência dos consumidores que buscam por alimentos isentos de ingredientes sintéticos.

Agradecimentos

O financiamento para essa pesquisa foi fornecido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Os autores gostariam de agradecer a assistência técnica fornecido por Jair José de Lima, Lindamir Tullio, Luiz Covizzi e Jaqueline Leobet, e aos agricultores que doaram amostras de suas lavouras e deram suporte durante a colheita. Os autores também gostariam de agradecer ao Centro de Assessoria de Publicação Acadêmica, CAPA - www.capa.ufpr.br, da Universidade Federal do Paraná, pela assistência na edição de língua inglesa.

Declaração de conflito de interesse

Todos os autores declaram que não há conflitos de interesse.

Referências

- Abbasi, A. M., Shah, M. H., Li, T., Fu, X., Guo, X. & Liu, R. H. (2015). Ethnomedicinal values, phenolic contents and antioxidant properties of wild culinary vegetables. *Journal of Ethnopharmacology*, 162 (2015), 333-345. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.051>.
- Adeogun, O. O., Maroyi, A. & Afolayan, A. J. (2017). Effects of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* L. on quality of fresh cut *Cucumis sativus* L. *Asian Journal of Plant Pathology*, 11 (4), 174-184. <https://doi.org/10.3923/ajppaj.2017.174.184>.
- Afshari, A. & Sayyed-Alangi, S. Z. (2017). Antioxidant effect of leaf extracts from *Cressa cretica* against oxidation process in soybean oil. *Food Science & Nutrition*, 5 (2), 324–333. <https://doi.org/10.1002/fsn3.396>.
- Albayrak, S., Aksoy, A., Albayrak, S. & Sagdic, O. (2013). *In vitro* antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species. *Iranian Journal of Science & Technology*, A1, 1-9. Retrieved from <https://pdfs.semanticscholar.org/e7f8/48ecc608ae193d24073f751f86630ae99d51.pdf>

Al-Rimawi, F., Tarawa, M. S. & Elama, C. (2017). Olive leaf extract as natural antioxidant additive of fresh hamburger stored at 4 °C running title: antioxidants from olive leaves in hamburger. *American Journal of Food Science and Technology*, 5 (4), 162-166. <https://doi.org/10.12691/ajfst-5-4-7>.

Altunkaya, A., Becker, E. M., Gökmen, V. & Skibsted, L. H. (2009). Antioxidant activity of lettuce extract (*Lactuca sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 115 (1), 163-168. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.082>.

Antolak, H., Czyzowska, A. & Kregiel, D. (2017). Antibacterial and antiadhesive activities of extracts from edible plants against soft drink spoilage by *Asaia* spp. *Journal of Food Protection*, 80 (1), 25-34. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-134>.

Appelt, P., da Silva, J. P., Fuganti, O., Aquino, L. E. N., Sandrino, B., Wohnrath, K., Santos, V. A. Q., Cunha, M. A. A., Veiga, A., Murakami, F. S., Back, D. F. & Araujo, M. P. (2017). New heterobimetallic ruthenium (II) complexes [Ru(N-S)(bipy)(dppf)] PF₆: Synthesis, molecular structure, electrochemistry, DFT, antioxidant and antibacterial potential. *Journal of Organometallic Chemistry*, 846, 326-334. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.07.005>.

Asnaashari, S., Delazar, A., Seyed-Alipour, S. S., Nahar, L., Williams, A. S., Pasdaran, A., Mojarab, M., Azad, F. F. & Sarker, S. D. (2010). Chemical composition, free-radical-scavenging and insecticidal activities of the aerial parts of *Stachys byzantina*. *Archives of Biological Sciences*, 62 (3), 653-662. <https://doi.org/10.2298/ABS1003653A>.

Bondi, M., Lauková, A., de Niederhausern, S., Messi, P. & Papadopoulou, C. (2017). Natural preservatives to improve food quality and safety. *Journal of Food Quality*, 2017, 1-3. <https://doi.org/10.1155/2017/1090932>.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564–582. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88925/pdf/cm000564.pdf>.

Finney, D. J. (1949). The adjustment for a natural response rate in probit analysis. *Annals of applied biology*, 36, 187–95. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1949.tb06408.x>.

Frost, I., Smith, W. P. J., Mitri, S., Millan, A. S., Davit, Y., Osborne, J. M., Joe M. Pitt-Francis, J. M., MacLean, R. C. & Foster, K. R. (2018). Cooperation, competition and antibiotic resistance in bacterial colonies. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 12, 1582–1593. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0090-4>.

Gómez-Rivera, A., González-Cortazar, M., Herrera-Ruíz, M., Zamilpa, A. & Rodríguez-López, V. (2018). Sessein and isosessein with anti-inflammatory, antibacterial and antioxidante activity isolated from *Salvia sessei* Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, 217, (2018), 212-219. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.02.012>.

Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345–391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>.

Guo, R., Wei, P. & Liu, W. (2007). Combined antioxidant effects of rutin and Vitamin C in Triton X-100 micelles. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43 (4), 1580-1586. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.11.029>.

Hatamnia, A. A., Abbaspour, N. & Darvishzadeh, R. (2014). Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food Chemistry*, 145, 306-311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.031>.

Hoque, M. M., Bari, M. L., Juneja, V. K. & Kawamoto, S. (2008). Antimicrobial activity of cloves and cinnamon extracts against food borne pathogens and spoilage bacteria and inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground chicken meat with their essential oils. *Report of National Food Research Institute*, 72, 9-21. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=JP2008003797>.

Jassbi, A. R., Miri, R., Asadollahi, M., Javanmardi, N. & Firuzi, O. (2013). Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial effects of nine species of woundwort (*Stachys*) plants. *Pharmaceutical Biology*, 52 (1), 62-67. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.810650>.

Kanner, J. (2007). Dietary advanced lipid oxidation endproducts are risk factors to human health. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51 (9), 1094-101. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600303>.

Kinupp, V. F. & Lorenzi, H. (2014). *Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas*. Instituto Plantarum, 1 ed, 768p. ISBN 8586714461.

Liao, W. C., Lai, Y.-C., Yuan, M.-C., Hsu, Y.-L. & Chan, C.-F. (2011). Antioxidative activity of water extract of sweet potato leaves in Taiwan. *Food Chemistry*, 127 (3), 1224-1228. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.131>.

Mandl, J., Szarka, A. & Bánhegyi, G. (2009). Vitamin C: update on physiology and pharmacology. *British Journal of Pharmacology*, 157 (7), 1097–1110. <http://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00282.x>.

Mekinic, I. G., Skroza, D., Ljubenkov, I., Simat, V., Mozina, S. S. & Katalinic, V. (2014). *In vitro* antioxidant and antibacterial activity of Lamiaceae phenolic extracts: A correlation study. *Food Technology and Biotechnology*, 52 (1), 119–127. ISSN 1330-9862. Retrieved from http://www.ftb.com.hr/images/pdfarticles/2014/January-March/ftb_52-1_119-127.pdf.

Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G.; Reis, A. S.; Santos, T. C.; Coube, C. S. & Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15 (2), 127–130. <https://doi.org/10.1002/ptr.687>.

Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. & McLaughlin, L. J. (1982). Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45, 31- 34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>.

Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S. & Vojnov A. A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, 40 (2), 223-231. <https://doi.org/10.1080/10715760500473834>.

Nenadis, N., Wang, L.-F., Tsimidou, M. & Zhang, H.-Y. (2004). Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS^{•+} Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (15), 4669–4674. <https://doi.org/10.1021/jf0400056>.

Ohikhena, F. U., Wintola, O. A. & Afolayan, A. J. (2016). Toxicity assessment of different solvent extracts of the medicinal plant, *Phragmanthera capitata* (Sprengel) balle on Brine Shrimp (*Artemia salina*). *International Journal of Pharmacology*, 12, 701-710. <https://doi.org/10.3923/ijp.2016.701.710>.

Paulo, M. G., Marques, H. M. C., Moraes, J. A. G. & Almeida, A. J. (1999). An isocratic LC method for the simultaneous determination of vitamins A, C, E and beta-carotene. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21 (2), 399–406. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(99\)00172-7](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(99)00172-7).

Pertuzatti, P. B., Barcia, M. T., Rodrigues, D., Cruz, P. N., Hermosín-Gutiérrez, I., Smith, R. & Godoy, H. T. (2014). Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. *Food Chemistry*, 164, 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.114>.

Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269 (2), 337–341. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>.

Rosyid, T. A., Karim, R., Adzahan, N. M. & Ghazali, F. M. (2011). Antibacterial activity of several Malaysian leaves extracts on the spoilage bacteria of yellow alkaline noodles. *African Journal of Microbiology Research*, 5 (8), 898-904. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.762>.

Saeedi, M., Morteza-Semnani, K., Mahdavi, M. R. & Rahimi, F. (2008). Antimicrobial studies on extracts of four species of *Stachys*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70 (3), 403–406. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.43021>.

Shingnaisuia, K., Dey, T., Manna, P. & Kalita, J. (2018). Therapeutic potentials of *Houttuynia cordata* Thunb. against inflammation and oxidative stress: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 220 (2018), 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.038>.

Singleton, V.L. & Rossi, J.A. (1965). A Calorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Society for Ethnology and Viticulture*, 16 (3), 144-158.

WHO. (2017). *Food safety*. Fact sheet. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/en/>.

Woldegiorgis, A. Z., Abate, D., Haki, G. D. & Ziegler, G. R. (2014). Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. *Food Chemistry*, 157, 30-36. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.014>.

5 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que as folhas de *S. byzantina* apresentou elevados teores de carboidratos, fibras, proteínas, potássio e ferro. As folhas também podem contribuir consideravelmente para a ingestão diária necessária dos consumidores com relação aos aminoácidos essenciais. Espera-se que os resultados do presente estudo contribuam para uma melhor nutrição daqueles que consomem este vegetal. Além disso, do ponto de vista acadêmico e tecnológico, esta pesquisa enriquece o banco de dados referente aos benefícios nutricionais do consumo das folhas de *S. byzantina*. Ainda, a planta pode ser utilizada no desenvolvimento de novos suplementos ou alimentos funcionais, tornando sua comercialização mais lucrativa para os pequenos agricultores que a cultivam. Recomenda-se mais pesquisas sobre consumo, preparação e processamento seguros para otimizar a biodisponibilidade dos seus nutrientes.

As folhas de *S. byzantina* mostram um considerável teor de fenólicos totais. O extrato mostra intensa atividade sequestrante de radicais DPPH, bem como, de radicais ABTS. Além disso, a capacidade antioxidante total baseada na formação do complexo fosfomolibdênio é similar àquela encontrada na rutina. A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato indicou inibição no crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typhi*. Não apresentou efeito sobre *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Não foi observada toxicidade no extrato por meio do teste com a *A. salina*. Portanto, o extrato de folhas de *S. byzantina* apresenta um efeito antioxidante e antimicrobiano substancial e constitui um aditivo natural promissor para aumento tempo de prateleira de produtos alimentícios, que satisfaz a preferência dos consumidores que buscam por alimentos isentos de ingredientes sintéticos.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, A. M.; SHAH, M. H.; LI, T.; FU, X.; GUO, X.; LIU, R. H. Ethnomedicinal values, phenolic contents and antioxidant properties of wild culinary vegetables. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 162, n. 2015, p. 333-345, 2015.
- ADEOGUN, O. O.; MAROYI, A.; AFOLAYAN, A. J. Effects of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* L. on quality of fresh cut *Cucumis sativus* L. **Asian Journal of Plant Pathology**, v. 11, n. 4, p. 174-184, 2017.
- AFSHARI, A.; SAYYED-ALANGI, S. Z. Antioxidant effect of leaf extracts from *Cressa cretica* against oxidation process in soybean oil. **Food Science & Nutrition**, v. 5, n. 2, p. 324–333, 2017.
- ALBAYRAK, S.; AKSOY, A.; ALBAYRAK, S.; SAGDIC, O. *In vitro* antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species. **Iranian Journal of Science & Technology**, A1, p. 1-9, 2013.
- ALEKSANDROWICZ, L.; GREEN, R.; JOY, E. J. M.; SMITH, P.; HAINES, A. The impacts of dietary change on greenhouse gas emissions, land use, water use, and health: A Systematic Review. **PLOS ONE**, v. 11, n. 11, e0165797, 2016.
- AL-RIMAWI, F.; TARAWA, M. S.; ELAMA, C. Olive leaf extract as natural antioxidant additive of fresh hamburger stored at 4 °C running title: antioxidants from olive leaves in hamburger. **American Journal of Food Science and Technology**, v. 5, n.4, p. 162-166, 2017.
- ALSMEYER, R. H.; CUNNINGHAM, A. E.; HAPPICH, M. L. Equations predict PER from amino acid analysis. **Food Technology**, 28, 34–38, 1974.
- ALTUNKAYA, A.; BECKER, E. M.; GÖKMEN, V.; SKIBSTED, L. H. Antioxidant activity of lettuce extract (*Lactuca sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 163-168, 2009.
- ANTOLAK, H.; CZYZOWSKA, A.; KREGIEL, D. Antibacterial and antiadhesive activities of extracts from edible plants against soft drink spoilage by *Asaia* spp. **Journal of Food Protection**, v. 80, n. 1, p. 25-34, 2017.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. (18th ed.). Association of Official Analysis Chemists International Washington, D. C., 2005. 2590 p.
- APPELT, P.; DA SILVA, J. P.; FUGANTI, O.; AQUINO, L. E. N.; SANDRINO, B.; WOHNATH, K.; SANTOS, V. A. Q.; CUNHA, M. A. A.; VEIGA, A.; MURAKAMI, F. S.; BACK, D. F.; ARAUJO, M. P. New heterobimetallic ruthenium (II) complexes [Ru(N-S)(bipy)(dppf)] PF₆: Synthesis, molecular structure, electrochemistry, DFT, antioxidant and antibacterial potential. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 846, p. 326-334, 2017.
- ASNAASHARI, S.; DELAZAR, A.; SEYED-ALIPOUR, S. S.; NAHAR, L.; WILLIAMS, A. S.; PASDARAN, A.; MOJARAB, M.; AZAD, F. F.; SARKER, S. D. (2010).

Chemical composition, free-radical-scavenging and insecticidal activities of the aerial parts of *Stachys byzantina*. **Archives of Biological Sciences**, v. 62, n. 3, p. 653-662, 2010.

AUNE, D.; GIOVANNUCCI, E.; BOFFETTA, P.; FADNES, L. T.; KEUM, N.; NORAT, T.; GREENWOOD, D. C.; RIBOLI, E.; VATTEN, L. J.; TONSTAD, S. Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality — a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **International Journal of Epidemiology**, v. 46, n. 3, p. 1029–1056, 2017.

AVALIAÇÃO ECOSSISTÊMICA DO MILÊNIO. **Ecosystems and human well-being: current state and trends: findings of the Condition and Trends**, 2005. 922 p.

AYALEW, Y.; RETTA, N.; DESSE, G.; MOHAMMED, A.; MELLESSE, A. (2017). Amino acid profile and protein quality in tuber and leaf of *Coccoloba abyssinica* (Lam.) (Cogn.) accessions of Ethiopia. **Food Science & Nutrition**, v. 5, p. 722–729, 2017.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARREIRA, T. F.; PAULA-FILHO, G. X.; RODRIGUES, V. C. C.; ANDRADE, F. M. C.; SANTOS, R. H. S.; PRIORE, S. E.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Diversidade e equitabilidade de Plantas Alimentícias Não Convencionais na zona rural de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais, Campinas**, v. 17, n. 4, supl. II, p. 964-974, 2015.

BHARUCHA, Z.; PRETTY, J. The roles and values of wild foods in agricultural systems. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences**, v. 365, n. 1554, p. 2913–26, 2010.

BONDI, M.; LAUKOVÁ, A.; DE NIEDERHAUSERN, S.; MESSI, P.; PAPADOPOULOU, C. Natural preservatives to improve food quality and safety. **Journal of Food Quality**, 2017, p. 1-3, 2017.

BORTOLOTTI, I. M.; AMOROZO, M. C. M.; GUARIM NETO, G.; OLDELAND, J.; DAMASCENO-JUNIOR, G. A. Knowledge and use of wild edible plants in rural communities along Paraguay River, Pantanal, Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 11, n. 46, p. 1-14, 2015.

BRASIL. **Lei nº 12.188, de 11 de janeiro de 2010.**

BRASIL. **Lei nº 12.512, de 14 de outubro de 2011.**

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução da diretoria colegiada – **RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília : Ministério da Saúde, 2014. 156 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – 1. ed., 1. Brasília: Ministério da Saúde, 2013. 84 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Agrobiodiversidade e diversidade cultural**. Brasília: MMA/SBF, 2006. 82 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Arranjos produtivos locais: APLs de produtos da sociobiodiversidade** / Ministério do Meio Ambiente – Brasília, DF: MMA, 2017. 140 p.

BRASILb. **Lei nº 11.326, de 24 de julho de 2006**.

BRASILb. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de hortaliças não-convencionais** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. – Brasília: Mapa/ACS, 2010.

BRASILb. **Vigitel Brasil 2015 Saúde Suplementar: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 170 p.

SHINGNAISUIA, K.; DEY, T.; MANNA, P.; KALITA, J. Therapeutic potentials of *Houttuynia cordata* Thunb. against inflammation and oxidative stress: A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 220, n. 2018, p. 35-43, 2018.

CAMELO, G. G. S.; BLUM, J. Nutrient flows in small-scale farm production systems from Northeastern Brazil. **Agroecology and Sustainable Food Systems**, 2018.

CASELATO-SOUSA V. M.; AMAYA-FARFÁN J. State of knowledge on amaranth grain: a comprehensive review. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 4, p. 93-104, 2012.

CASTRILLO, M.; VIZCAÍNO, D.; MORENO, E.; LATORRACA, Z. Specific leaf mass, fresh: dry weight ratio, sugar and protein contents in species of Lamiaceae from different light environments. **Revista de Biologia Tropical**, v. 53, n. 1–2, p. 23–28, 2005.

CASTRO, J. **Geografia da fome (o dilema brasileiro: pão ou aço)**. 10ª edition. Rio de Janeiro: Antares, 1984. CDU 613.24:308.

CHAVES, M. S. **Plantas alimentícias não convencionais em comunidades ribeirinhas na Amazônia**. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, 2016. 108 p.

CIAPO / Câmara Interministerial de Agroecologia e Produção Orgânica. **Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica - PLANAPO**. Brasília, DF: MDS; CIAPO, 2013. 96 p.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564–582, 1999.

CRUZ, M. P.; PERONI, N.; ALBUQUERQUE, U. P. Knowledge, use and management of native wild edible plants from a seasonal dry forest (NE, Brazil). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 9, n. 79, p. 1-10, 2013.

FAO. **Carbohydrates in human nutrition**. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition, paper 66. Roma, 1998.

FAO. **Dietary protein quality evaluation in human nutrition**. Report of an FAO Expert Consultation, paper 92. Zealand, 2013.

FAO/WHO/UNU Expert Consultation on Energy and Protein Requirements. **The use of biological value of a protein in evaluating its quality for human requirements**. Rome, 1981.

FAO; WHO. **Final Report of the International Conference on Nutrition**. Roma, 1992.

FINNEY, D. J. The adjustment for a natural response rate in probit analysis. **Annals of applied biology**, v. 36, p. 187–95, 1949.

FONSECA-AZEVEDO, K.; HERCULANO-HOUZEL, S. Metabolic constraint imposes tradeoff between body size and number of brain neurons in human evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 45, p. 18571–18576, 2012.

FROST, I.; SMITH, W. P. J.; MITRI, S.; MILLAN, A. S.; DAVIT, Y.; OSBORNE, J. M.; JOE M. PITT-FRANCIS, J. M., MACLEAN, R. C.; FOSTER, K. R. Cooperation, competition and antibiotic resistance in bacterial colonies. **Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, v. 12, p. 1582–1593, 2018.

FULLER, S.; TAPSELL, L. C.; BECK, E. J. Creation of a fibre categories database to quantify different dietary fibres. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 71, n. 2018, p. 36-43, 2018.

GÓMEZ-RIVERA, A.; GONZÁLEZ-CORTAZAR, M.; HERRERA-RUÍZ, M.; ZAMILPA, A.; RODRÍGUEZ-LÓPEZ, V. Sessein and isosessein with anti-inflammatory, antibacterial and antioxidante activity isolated from *Salvia sessei* Benth. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 217, n. 2018, p. 212-219.

GRISA, C.; SCHNEIDER, S. "Plantar pro gasto": a importância do autoconsumo entre famílias de agricultores do Rio Grande do Sul. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 46, n. 2, p. 481-515, 2008.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, v. 86, p. 345–391, 2012.

GUO, R.; WEI, P.; LIU, W. Combined antioxidant effects of rutin and Vitamin C in Triton X-100 micelles. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, n. 4, p. 1580-1586, 2007.

HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino acids in food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, n. 6, p. 912-916, 1989.

HAJIMEHDIPOOR, H.; GOHARI, A. R.; AJANI, Y.; SAEIDNIA, S. Comparative study of the total phenol content and antioxidant activity of some medicinal herbal extracts. **Research Journal of Pharmacognosy**, v. 1, n. 3, p. 21-25, 2014.

HARTMANN, C.; SIEGRIST, M. Consumer perception and behaviour regarding sustainable protein consumption: A systematic review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 61, p. 11–25, 2017.

HATAMNIA, A. A.; ABBASPOUR, N.; DARVISHZADEH, R. (2014). Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. **Food Chemistry**, v. 145, p. 306-311, 2014.

HICKEY, G. M.; POULIOT, M.; SMITH-HALL, C.; WUNDER, S.; NIELSEN, M. R. Quantifying the economic contribution of wild food harvests to rural livelihoods: A global-comparative analysis. **Food Policy**, v. 62, p. 122–132, 2016.

HOQUE, M. M.; BARI, M. L.; JUNEJA, V. K.; KAWAMOTO, S. Antimicrobial activity of cloves and cinnamon extracts against food borne pathogens and spoilage bacteria and inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground chicken meat with their essential oils. **Report of National Food Research Institute**, v. 72, p. 9-21, 2008.

IBGE. **Indicadores sociais mínimos**, 2017. Disponível em: <<https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/indicadoresminimos/conceitos.shtm>>. Visualizado em: 27/05/2018.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 150 p.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary Carbohydrates: Sugars and Starches. In: **Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids**. Relatório, 2005a.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate**. Washinton: The Natinal Ademies Press, 2005. 640 p.

JASSBI, A. R.; MIRI, R.; ASADOLLAHI, M.; JAVANMARDI, N.; FIRUZI, O. Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial effects of nine species of woundwort (*Stachys*) plants. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, 1, p. 62-67, 2013.

KAHANE, R.; HODGKIN, T.; JAENICKE, H.; HOOGENDOORN, C.; HERMANN, M.; KEATINGE, J. D. H.; HUGHES, J. A.; PADULOSI, S.; LOONEY, N. Agrobiodiversity for food security, health and income. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 33, p. 671–693, 2013.

KANNER, J. Dietary advanced lipid oxidation endproducts are risk factors to human health. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, n. 9, p. 1094-101, 2007.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. (2014). **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum, 1 ed, 768p.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum, 1 ed, 768p, 2014.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

LANDIS, D. A. Designing agricultural landscapes for biodiversity-based ecosystem services. **Basic and Applied Ecology**, v. 18, p. 1-12, 2017.

LANG, T; HEASMAN, M. **Food Wars: the battle for minds, mouths and markets**. London: Earthscan, 2004.

LEAL, M. L.; ALVES, R. P; HANAZAK, N. Knowledge, use, and disuse of unconventional food plants. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 14, n. 6, p. 1-9, 2018.

LIAO, W. C.; LAI, Y.-C.; YUAN, M.-C.; HSU, Y.-L.; CHAN, C.-F. Antioxidative activity of water extract of sweet potato leaves in Taiwan. **Food Chemistry**, v. 127, n. 3, p. 1224-1228, 2011.

LUCAS, B.; SOTELO, A. Effect of different alkalies, temperature, and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of foods. **Analytical Biochemistry**, v. 109, n. 1, p. 192–197, 1980.

MANDL, J.; SZARKA, A.; BÁNHEGYI, G. (2009). Vitamin C: update on physiology and pharmacology. **British Journal of Pharmacology**, v. 157, n. 7, p. 1097–1110, 2009.

MCDONOUGH, A. A.; YOUN, J. H. Potassium Homeostasis: The Knowns, the Unknowns, and the Health Benefits. **Physiology**, v. 3, n. 2, p. 100-111, 2017.

MEKINIC, I. G.; SKROZA, D.; LJUBENKOV, I.; SIMAT, V.; MOZINA, S. S.; KATALINIC, V. *In vitro* antioxidant and antibacterial activity of Lamiaceae phenolic extracts: A correlation study. **Food Technology and Biotechnology**, v. 52, n. 1, p. 119–127, 2014.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p. 127–130, 2001.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCCLAUGHLIN, L. J. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, p. 31- 34, 1982.

MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALLANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIEU, C.; CARRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EGGER, L.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A.; MARZE, S.; MCCLEMENTS, D. J.; MÉNARD, O.; RECIO, I.; SANTOS, C. N.; SINGH, R. P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, M. S.; WEITSCHIES, W.; BRODKORB, A. A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. **Food and Function**, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014.

MLITAN, A. M.; SASI, M. S.; ALKHERRAZ, A. M. Proximate and Minor Mineral Content in Some Selected Basil Leaves of *Ocimum gratissimum* L, in Libya. **International Journal of Chemical Engineering and Applications**, v. 5, n. 6, p. 502–505, 2014.

MMA / **Agrobiodiversidade e diversidade cultural**. Brasília: MMA/SBF, 2006. 82 p.

MONRO, J. A.; MISHRA, S. Database values for food-based dietary control of glycaemia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 5, p. 406-410, 2010.

MORENO, S.; SCHEYER, T.; ROMANO, C. S.; VOJNOV, A. A. **Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition**. **Free Radical Research**, v. 40, n. 2, p. 223-231, 2006.

MORUP, I. K.; OLESEN, E. S. New method for prediction of protein value from essential amino acid pattern. **Nutritional Report International**, v. 13, p. 355–365, 1976.

MUNE, M. A. M.; NYOBE, E. C.; BASSOGOG, C. B.; MINKA, S. R. (2016). A comparison on the nutritional quality of proteins from *Moringa oleifera* leaves and seeds. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, 2016.

NASCIMENTO, V. T.; LUCENA, R. F.; MACIEL, M. I.; ALBUQUERQUE, U. P. Knowledge and use of wild food plants in areas of dry seasonal forests in Brazil. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 52, n. 4, p. 317-43.

NAVOLAR, T. S.; RIGON, S. A.; PHILIPPI, J. M. S. Diálogo entre a agroecologia e a promoção da saúde. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 23, p. 69-79, 2010.

NENADIS, N.; WANG, L.-F.; TSIMIDOU, M.; ZHANG, H.-Y. estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS^{•+} assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4669–4674, 2004.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6^a ed. Artmed, 2014. 1328 p.

NURZYŃSKA-WIERDAK, R. Protein nutritional value of rocket leaves and possibilities of its modification during plant growth. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 39, n. 6, p. 1023–1028, 2015.

OHIKHENA, F. U.; WINTOLA, O. A.; AFOLAYAN, A. J. Toxicity assessment of different solvent extracts of the medicinal plant, *Phragmanthera capitata* (Sprengel) balle on Brine Shrimp (*Artemia salina*). **International Journal of Pharmacology**, v. 12, p. 701-710, 2016.

OSBORNE, D, R.; VOOGT, P. **The analysis of nutrient in foods**. London; New York: Academic Press, vii, 1978. 251 p.

PALEGO, L., BETTI, L., ROSSI, A.; GIANNACCINI, G. Tryptophan Biochemistry: Structural, Nutritional, Metabolic, and Medical Aspects in Humans. **Journal of Amino Acids**, 2016, p. 1–13, 2016.

PAULO, M. G.; MARQUES, H. M. C.; MORAES, J. A. G.; ALMEIDA, A. J. An isocratic LC method for the simultaneous determination of vitamins A, C, E and beta-carotene. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 21, n. 2, p. 399–406, 1999.

PEREIRA, R. G. F.; SOUZA, M. R. M.; MILGRES, C. S. F.; CAIXETA, G. Z. T. Potencial de comercialização de hortaliças tradicionais em mercados locais na Zona da Mata. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais**. Resumos expandidos, v. 10, 2013.

PERTUZATTI, P. B.; BARCIA, M. T.; RODRIGUES, D.; CRUZ, P. N.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; SMITH, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. **Food Chemistry**, v. 164, p. 81-88, 2014.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 337–341, 1999.

RAMIRES, E. K. N. M.; MENEZES, R. C. E.; LONGO-SILVA, G.; SANTOS, T. G.; MARINHO, P. M.; SILVEIRA, J. A. C. Prevalência e Fatores Associados com a Síndrome Metabólica na População Adulta Brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde - 2013. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 110, n. 5, p. 455-466, 2018.

RECINE, E.; VASCONCELLOS, A. B. Políticas nacionais e o campo da Alimentação e Nutrição em Saúde Coletiva: cenário atual. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 73-79, 2011.

REHM, S.; ESPIG, G. **The cultivated plants of the tropics and subtropics, cultivation, economic value, utilization**. Margraf Verlag, Weikersheim, Germany, viii, 1991. 522 p.

RIGON, S. A.; SCHMIDT, S. T.; BÓGUS, C. M. Desafios da nutrição no Sistema Único de Saúde para construção da interface entre a saúde e a segurança alimentar e nutricional. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 3, 2016.

ROSYID, T. A.; KARIM, R.; ADZAHAN, N. M.; GHAZALI, F. M. (2011). Antibacterial activity of several Malaysian leaves extracts on the spoilage bacteria of yellow alkaline noodles. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 8, p. 898-904, 2011.

SAEEDI, M.; MORTEZA-SEMNANI, K.; MAHDAVI, M. R.; RAHIMI, F. Antimicrobial Studies on Extracts of Four Species of *Stachys*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 70, n. 3, p. 403-406, 2008.

SAEEDI, M.; MORTEZA-SEMNANI, K.; MAHDAVI, M. R.; RAHIMI, F. Antimicrobial Studies on Extracts of Four Species of *Stachys*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 70, n. 3, p. 403–406, 2008.

SEEKELL, D.; CARR, J.; DELL'ANGELO, J.; D'ODORICO, P.; FADER, M.; GEPHART, J.; KUMMU, M.; MAGLIOCCA, N.; PORKKA, M.; PUMA, M.; RATAJCZAK, Z.; RULLI, M. C.; SUWEIS, S.; TAVONI, A. Resilience in the global food system. **Environmental Research Letters**, v. 12, n. 2, 025010, 2017.

SILVA, A. J. R.; ANDRADE, L. H. C. Etnobotânica nordestina: estudo comparativo da relação entre comunidades e vegetação na Zona do Litoral - Mata do Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 45-60. 2005.

SILVA, F.; GIATTI, L.; DE FIGUEIREDO, R.; MOLINA, M.; DE OLIVEIRA CARDOSO, L.; DUNCAN, B.; BARRETO, S. Consumption of ultra-processed food and obesity: Cross sectional results from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) cohort (2008–2010). **Public Health Nutrition**, p. 1-9, 2018.

SILVA, L. F. L.; SOUZA, D. C.; RESENDE, L. V.; NASSUR, R. C. M. R.; SAMARTINI, C. Q.; GONÇALVES, W. M. Nutritional Evaluation of Non-Conventional Vegetables in Brazil. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 90, n.2, p.1775-1787, 2018.

SILVA, L. F. L.; SOUZA, D. C.; RESENDE, L. V.; NASSUR, R. C. M. R.; SAMARTINI, C. Q.; GONÇALVES, W. M. Nutritional Evaluation of Non-Conventional Vegetables in Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, v. 90, n. 2, p. 1775-1787, 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. A Calorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Society for Ethnology and Viticulture**, v. 16, v. 3, p. 144-158, 1965.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E

METABOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA ESTUDOS DA OBESIDADE. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, Sup. I, 2005.

TOLEDO, A.; BURLINGAME, B. Biodiversity and nutrition: A common path toward global food security and sustainable development. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6–7, p. 477–483, 2006.

TRENNEPOHL, B. I. (2016). **Caracterização físico-química, atividade antioxidante e atividades biológicas da espécie *Pereskia aculeata* Mill** (Dissertação). Disponível em:<<http://hdl.handle.net/1884/47922>>. Acesso em: 25 abr. 2018.

TUNÇTÜRK, M.; ERYİĞİT, T.; KAYA, A. R. Nutritional properties, minerals, and selected heavy metal contents in herby cheese plants of Lamiaceae. **Applied Biological Chemistry**, v. 60, n. 1, p. 41–47, 2017.

USDA. **2015–2020 Dietary Guidelines for Americans**, 2015. Disponível em:<<http://health.gov/dietaryguidelines/2015/guidelines/>>. Acesso em: 05 Ago 2017.

USDA. USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release 28. **National Nutrient Database for Standard Reference**, 2016. Disponível em:<<http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=8964>>. Acesso em: 12 Ago 2017.

VIANA, J. P. **Operacionalização da Política de Preços Mínimos para produtos da sociobiodiversidade 2009-2013: há espaço para crescer**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, Brasília: Ipea, 2015.

VUUREN et al. Energy, land-use and greenhouse gas emissions trajectories under a green growth paradigm. **Global Environmental Change**, v. 42, p. 237–250, 2017.
WHELTON, P. K. Sodium and Potassium Intake in US Adults. **Circulation**, v. 137, p. 247–249, 2018.

WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 170–177, 1986.

WHO. (2017). **Food safety**. Fact sheet. Disponível em:<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/en/>>. Acesso em: 23 mai 2018.

WHO. **Food based dietary guidelines in the WHO European Region**. Copenhagen, Denmark, 2003. Disponível em:<http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0017/150083/E79832.pdf>. Acesso em: 12 jan 2018.

WHO. **Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation**. Tabelas 49 e 50, p. 245–246. WHO technical report series, n. 935, Geneva, 2007. 276 p.

WITTMAN, H.; CHAPPELL, M. J.; ABSON, D. J.; KERR, R. B.; BLESCH, J.; HANSPACH, J.; PERFECTO, I.; FISCHER, J. A social–ecological perspective on harmonizing food security and biodiversity conservation. **Regional Environmental Change**, v. 17, n. 5, p. 1291–1301, 2017.

WOLDEGIORGIS, A. Z.; ABATE, D.; HAKI, G. D.; ZIEGLER, G. R. Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. **Food Chemistry**, v. 157, p. 30–36, 2014.

WOOD, W. Habit in Personality and Social Psychology. **Personality and Social Psychology Review**, v. 21, n. 4, 2017.

ZENGİN, G.; AKTUMSEK, A.; GÜLER, G. O.; ÇAKMAK, Y. S.; GIRÓN-CALLE, J.; ALAIZ, M.; VIOQUE, J. Nutritional quality of protein in the leaves of eleven *Asphodeline* species (*Liliaceae*) from Turkey. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1360–1364, 2012.

ZHAO, H.; YU, C.; LI, M. Effects of geographical origin, variety, season and their interactions on minerals in tea for traceability. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, n. 2017, p. 15–20, 2017.